

**Université Montpellier II**  
**Ecole Doctorale Systèmes Intégrés en Biologie, Agronomie, Géosciences,**  
**Hydrosciences et Environnement (Sibaghe).**

**NOTICE DE TRAVAUX**  
**Présentée pour l'obtention du diplôme**

**HABILITATION A DIRIGER DES RECHERCHES**

Par  
**Philippe Lachenaud**  
Chercheur au Cirad-Bios

**« L'amélioration génétique du cacaoyer. Des ressources génétiques forestières  
aux variétés cultivées »**

Soutenue le 3 mars 2010

Membres du jury :

M. CHARRIER André, SupAgro Montpellier et U. Montpellier 2, Président du jury.  
M. DAVID Jacques, UMR DIAPC, SupAgro Montpellier  
M. LEFEVRE François, Inra-URFM, Avignon  
Mme NEEMA Claire, Dpt SVS, AgroParisTech  
M. PRAT Daniel, UMR5023, Université Lyon 1  
M. SACHE Yvan, UMR Bioger-CPP, Inra AgroParisTech --

## Sommaire

I. Curriculum vitae	3
II. Activités d'encadrement et de formation	5
III. Publications et travaux	7
3.1 Publications dans périodiques	7
3.2 Communications orales lors de rencontres internationales	12
3.3 Posters	16
3.4 Divers	17
3.5 Rapports de mission	18
IV. Synthèse des résultats scientifiques	21
4.1 Amélioration génétique et sélection en Côte d'Ivoire	22
4.1.1 Les variétés hybrides des générations 1975 et 1979	22
4.1.2 Le programme de sélection récurrente réciproque	23
4.1.3 L'utilisation des haploïdes doublés	24
4.2 Les cacaoyers spontanés de Guyane	28
4.2.1 Prospections et collecte	28
4.2.2 Sauvegarde	29
4.2.3 Caractérisation et évaluation	29
4.2.4 Diversité génétique et structuration	30
4.2.5 Utilisation dans les programmes d'amélioration	31
4.3 Conclusions	34
4.4 Références citées	34
V. Projet de recherches	38
5.1 Objectifs	38
5.2 Le projet et les résultats attendus	38
5.2.1 La problématique scientifique-Questions de recherche	38
5.2.2 L'état de l'art	39
5.2.3 Le contexte international	40
5.2.4 Les travaux envisagés	40
5.2.5 Les protocoles expérimentaux	41
A) Evaluation de la résistance aux <i>Phytophthora</i>	41
B) Evaluation de la résistance à <i>Moniliophthora perniciosa</i>	42
C) Evaluation de la résistance à <i>Ceratocystis fimbriata</i>	43
D) Caractérisation de la dureté des cortex	44
E) Tests à Montpellier (Cirad)	44
F) Prélèvement des endophytes	44
5.2.6 Le calendrier prévisionnel	47
5.3 Perspectives	47
5.4 Références citées	48

## I. Curriculum vitae : Philippe LACHENAUD

<b>Nationalité :</b>	Française
<b>Date de naissance :</b>	02 septembre 1952
<b>Adresse professionnelle :</b>	UPR Maîtrise des bioagresseurs des cultures pérennes TA-A31/02 34398 Montpellier Cedex 5, France  Téléphone : +33 4 67 61 56 33 Fax : +33 4 67 61 55 81 Adresse électronique : philippe.lachenaud@cirad.fr
<b>Profession :</b>	<b>Chercheur</b>
<b>Fonction :</b>	<b>Généticien cacao</b>  Centre de coopération internationale en recherche agronomique pour le développement Département BIOS
<b>Compétences :</b>	<b>Cacao, ressources génétiques, sélection, phytotechnie</b>  Ressources génétiques cacaoyères (clones, matériel spontané, descripteurs). Sélection cacaoyère (modalités, protocoles, dispositifs). Phytotechnie et physiologie du cacaoyer.  Thèmes de recherche en cours : - description et caractérisation du matériel spontané de Guyane, - étude de la variabilité génétique du matériel spontané de Guyane. - élaboration du rendement.
<b>Autres expertises :</b>	Facteurs de la Fructification et Remplissage des cabosses. Déficience en bore sur cacaoyer.
<b>Régions d'expérience :</b>	<b>Brésil, Côte d'Ivoire, Equateur, Gabon, Guyane, Honduras, Saõ Tomé et Principe</b>
<b>Formation :</b>	Doctorat Institut National Agronomique (INA-PG) / Paris / France (1991)  Diplôme d'Ingénieur Agronome de l'INA-PG INA-PG / Paris / France (1977)
<b>Compétences linguistiques :</b>	<b>Langue maternelle :</b> Français <b>Langues de travail :</b> Anglais, Espagnol <b>Autre langue connue (lue) :</b> Portugais
<b>Expérience professionnelle :</b>	Depuis 2002 : <b>Cirad-CP, puis Cirad-Bios</b> Montpellier (France) Généticien et expert cacao  Ressources génétiques cacaoyères Sauvegarde et études de la collection de Guyane. Modélisation de l'élaboration du rendement (Cameroun)

## Implications internationales

1997-2002 : **CIRAD-CP**

CNRA-Bingerville (Côte d'Ivoire)  
Généticien Cacao et agronome expert cacao

Responsabilité du programme de Sélection Récurrente Réciproque + Essai clonal international au CNRA (projet CFC-IPGRI).  
Télédétection des vergers café-cacao en Côte d'Ivoire (CIRAD-CP/BNETD-CCT).

1996-1997 : **CIRAD-CP**

Montpellier (France)  
Généticien et expert cacao

Caractérisation des cacaoyers spontanés de Guyane.  
Expertise cacao-café en Côte d'Ivoire (télédétection des vergers).

1995-1996 : **CIRAD-CP**

Guayaquil et Pichilingue (INIAP, Equateur)  
Généticien cacao (projet européen d'amélioration de la qualité du cacao équatorien)

Sélection cacao (résistances aux maladies et qualité).

1988-1995 : **Institut de recherches sur le café et le cacao (IRCC) - puis CIRAD-CP**

Kourou (Guyane)  
Chef de mission IRCC, responsable des programmes cacao et café

Etude du matériel guyanais spontané (Prospections, sauvegarde, description, évaluation).  
Gestion des collections cacao et café.

1981-1988 : **IRCC**

Divo (Côte d'Ivoire)  
Généticien cacao

Ressources génétiques.  
Sélection cacaoyère.  
Phytotechnie cacaoyère.

1980-1981 : **Ministère de l'agriculture, Service de la protection des végétaux**

Poitiers (France)  
Ingénieur d'agronomie contractuel

Adjoint au responsable des avertissements agricoles.

1977-1979 : **Institut Français du Café et du Cacao**

Divo, Zagné (Côte d'Ivoire)  
Volontaire Service National Actif

Implantation des champs semenciers cacao de la SATMACI.  
Gestion de la Base de Multiplication et de Vulgarisation de Zagné.

Un des membres fondateurs et membre du comité de pilotage (Steering Committee) du réseau CACAONET (« Global Cacao Genetic Resources Network »), représentant du Cirad.

Membre à deux reprises du comité international d'organisation des conférences internationales sur la recherche cacaoyère organisées par la COPAL (en 2006, Costa Rica et en 2009, Bali, Indonésie).

## II. Activités d'encadrement et de formation.

### 2-1 Formations diplômantes

- En 1996-98, j'ai participé à l'encadrement d'une étudiante en thèse (Universités d'Abidjan et de Paris V), Mlle Fatoumata Barry. Sa thèse s'intitulait : « Extraction des paramètres qualitatifs et quantitatifs pour la caractérisation des vergers café et cacao de Côte d'Ivoire par télédétection ». Ma participation a concerné les aspects agronomiques des cacaoyères (et caféières).

- Lors de mon dernier séjour de longue durée en Côte d'Ivoire (1997-2002), j'ai participé à l'encadrement rapproché d'un thésard et d'un étudiant en DEA de l'Université de Cocody, pour les aspects « Génétique » de leurs travaux. Mathias G. Tahi (thèse soutenue en 2003 : « Evaluation sur feuille de cacaoyer de la résistance à *Phytophthora palmivora*, agent de la pourriture brune des cabosses ») est maintenant chercheur au CNRA, en charge du programme de Sélection Récurrente et Réciproque du cacaoyer (programme dont j'étais responsable) et, à ce titre, je continue son « encadrement ».

L'étudiant qui suivait un DEA à l'époque, Désiré N. Pokou, a soutenu une thèse en 2008, avec un sujet sur la diversité des cacaoyers utilisés en Côte d'Ivoire (« Etude de la diversité génétique des populations de la sélection récurrente réciproque du cacaoyer (*Theobroma cacao* L.) et de quelques populations cultivées en milieu paysan en Côte d'Ivoire»). J'ai continué à participer à son encadrement lors de son travail de thèse (j'étais alors en poste à Montpellier). Son premier article, sur l'évolution de la diversité génétique entre les deux premiers cycles de SRR (où je suis co-auteur) a été publié dans la revue *Plant Breeding*.

- Je suis membre du comité de thèse d'un collègue chercheur du Cirad, Patrick Jagoret, dont le sujet s'intitule : « Fonctionnement et dynamiques des systèmes de culture plurispécifiques à base de cacaoyer dans un bassin de production ancien : le centre Cameroun » (directeur de thèse J. Wery, ED Sibaghe, soutenance prévue fin 2010).

- En 2007, j'ai participé à la formation d'un étudiant en licence 3 pro, de l'Université de Montpellier 2, Renaud Favier, dont le stage s'intitulait « les cacaoyers de Guyane française, diversité biologique et chimique ».

- Entre 1981 et 1988 (Station IFCC-IRCC de Divo, Côte d'Ivoire), j'ai été maître de stage de plusieurs étudiants de l'ENSA d'Abidjan (devenue ensuite l'ENSA de Yamoussoukro), où il m'arrivait de donner des cours. Cependant, j'ai laissé sur place les documents et, bien évidemment puisque cela remonte à 25 ans, j'aurais beaucoup de mal à retrouver les noms et "le devenir" des stagiaires.

En 1987-88, j'ai participé à l'encadrement d'Olivier Sounigo (inscrit en thèse à l'Université d'Orsay) pour un sujet sur « Le système d'incompatibilité du cacaoyer et ses implications pour la sélection ». Toutefois, il a abandonné son projet après le décès de son directeur de thèse (J. Pernès). Deux articles avaient pourtant déjà été co-publiés sur ses travaux.

A mentionner que j'ai été également rapporteur de thèse pour un étudiant de l'University of Queensland (Australia), Emeras Tade, dont le sujet s'intitulait : « Agronomic, physiological and genetic studies on a dwarf mutant of cocoa (*Theobroma cacao* L.), soutenance en fin 2008.

### 2-2 Autres formations

Depuis que je suis en poste à Montpellier (fin 2002), avec une lettre de mission qui mentionne explicitement mon "appui scientifique" à plusieurs collègues, mes activités d'encadrement et de formation ont été les suivantes :

- En 2008, j'ai participé à l'encadrement de Mathias Tahi (chercheur ivoirien déjà mentionné plus haut) lors d'un stage de perfectionnement à Montpellier intitulé : « Sélection récurrente et réciproque du cacaoyer en Côte d'Ivoire : bilan à mi-parcours et orientation des recherches ».

- En 2005, j'ai été maître de stage pour un chercheur camerounais de l'IRAD, Joseph Amang M'Bang. Son sujet était intitulé : « Approches d'analyse, étude et modélisation, des données du projet FSP Régional IMP Cameroun ».

- En 2005, au Honduras, formation de Tito Jimenez Chacón (et d'une quinzaine de techniciens), ingénieur responsable en agronomie de l'ONG TechnoServe, à la reconnaissance phénotypique des divers groupes morpho-génétiques de cacaoyers présents dans le pays, et en particulier des Criollos.

- En 1996-97, en Côte d'Ivoire, j'ai assuré pendant plusieurs mois la formation en agronomie cacaoyère d'un technicien supérieur du BNETD - CCT, Souleymane Bamba.

- Entre 1981 et 1988, en Côte d'Ivoire, j'ai été responsable de stage pour des cadres chercheurs de l'IRCC, de l'IRHO, du BDPA, et pour des chercheurs étrangers (stages formels de plusieurs semaines). Là aussi, il me serait assez difficile de retrouver les traces. Néanmoins, je peux au moins citer le nom d'une chercheuse affectée à l'IRCC par son ministère : Jeanne A. K. N'Goran, qui est devenue plus tard responsable de l'amélioration génétique cacao au CNRA, puis conseiller du premier ministre pour les "produits de base" et maintenant responsable de la coopération internationale au CNRA. Son stage concernait « La sélection cacaoyère en RCI, aspects théoriques et pratiques ».

Parmi les chercheurs encore au Cirad actuellement, je peux mentionner Xavier Bonneau et Didier Clément.

### III. Publications et travaux

Au 15 octobre 2008, je compte actuellement à mon actif **29** publications avec Impact Factor (ISI), dont **20** en premier auteur, Cf tableau suivant. A mentionner également : 3 chapitres d'ouvrage (en co-auteur) + un en premier auteur, en cours (Université de Davis, USA).

Journal	I. F. 2007 (JCR)	Nb d'articles (premier auteur)	Remarques
Annals of Forest Sciences	1,591	1 (1)	
Journal of Applied Genetics	1,351	1	(I. F. 2008)
Scientia Horticulturae	0,694	1 (1)	
Acta Botanica Gallica	0,375	3 (3)	
Genetic Resources and Crop Evolution	0,731	3 (2)	
Euphytica	1,050	1 (1)	
Journal of Horticultural Science	0,658	3 (3)	
Plant Breeding	1,092	1	
Crop Protection	1,129	1	
Canadian Journal of Botany	0,985	1	
Café, Cacao, Thé	0,104 (*)	12 (9)	Fin en 1994
PLoS ONE	---	1	Revue récente
Totaux		29 (20)	

(\* : Valeur en 1994)

La revue PloS ONE, créée en décembre 2006, est encore trop récente pour avoir un facteur d'impact. Il est à prévoir qu'il sera élevé.

La liste de l'ensemble de mes travaux scientifiques figure ci-dessous (octobre 2008)

- 3-1) Publications dans périodiques (revues avec Facteur d'Impact en gras)
  - premier auteur **(37)**
  - co-auteur **(14)**
- 3-2) Communications orales lors de rencontres internationales
  - premier auteur **(9)**
  - co-auteur **(23)**
- 3-3) Communications par posters lors de congrès **(8)**
- 3-4) Divers (dont chapitres d'ouvrages) **(17)**
- 3-5) Rapports de missions **(28)**

#### 3.1 Publications dans périodiques

**En premier auteur :**

- LACHENAUD, Ph., D. ZHANG. 2008.  
Genetic diversity and population structure in wild stands of cacao trees (*Theobroma cacao* L.) in French Guiana  
***Annals of Forest Science* 65: 310-316.**
- LACHENAUD, Ph. 2008.  
La collection de cacaoyers (*Theobroma cacao*) du Cirad en Guyane française  
Lettres du Groupe de Ressources Phytogénétiques d'Aquitaine, 33 : 4-6

- LACHENAUD, Ph., PAULIN, D., DUCAMP, M. & THEVENIN, J.-M. 2007.  
Twenty years of agronomic evaluation of wild cocoa trees (*Theobroma cacao* L.) from French Guiana.  
***Scientia Horticulturae* 113 (4): 313-321.**
- LACHENAUD, Ph. 2007.  
Fruit trait variability in wild cocoa trees (*Theobroma cacao* L.) from the Camopi and Tanpok basins in French Guiana.  
***Acta Botanica Gallica* 154 (1), 117-128.**
- LACHENAUD, Ph. 2007.  
Ortet selection in cacao progenies from the Kérindioutou river in French Guiana  
*Ingenic Newsletter*, 11: 5-7
- LACHENAUD, Ph. 2006.  
Les cacaoyers spontanés de Guyane  
*Les Amis du Muséum National d'Histoire Naturelle*, 225, 1-4
- LACHENAUD, Ph., G. OLIVER, Ph. BASTIDE & D. PAULIN. 2006.  
Le remplissage des cabosses des cacaoyers spontanés de Guyane (*Theobroma cacao* L.)  
***Acta Botanica Gallica* 153 (1), 105-114**
- LACHENAUD, Ph., O. SOUNIGO & B. SALLEE. 2005.  
Les cacaoyers spontanés de Guyane française : état des recherches.  
***Acta Botanica Gallica* 152 (3), 325 - 346**
- LACHENAUD, Ph., O. SOUNIGO & D. CLEMENT. 2005.  
The compatibility – yield efficiency relationship.  
*Ingenic Newsletter*, 10, 13 – 16
- LACHENAUD, Ph. and G. OLIVER. 2005.  
Compatibility and duration of pod maturation in Guianan wild cocoa trees. Preliminary results.  
*Ingenic Newsletter*, 10, 20 - 22.
- LACHENAUD, Ph. and G. OLIVER. 2005.  
Variability and selection for morphological bean traits in wild cacao trees (*Theobroma cacao* L.) from French Guiana.  
***Genetic Resources and Crop Evolution* 52, 225-231**
- LACHENAUD, Ph., O. SOUNIGO and G. OLIVER. 2004.  
Genetic structure of Guianan wild cocoa (*Theobroma cacao* L.) described using isozyme electrophoresis.  
*Plant Genetic Resources Newsletter* 139 : 24-30.
- LACHENAUD Ph. and J. C. MOTAMAYOR. 2004.  
Red pods in progenies from the Euleupousing River in French Guiana.  
*Ingenic Newsletter* , 9, 12-15.
- LACHENAUD, Ph. & C. MONTAGNON. 2002.  
Competition effects in cocoa (*Theobroma cacao* L.) hybrid trials.  
***Euphytica* 128 (1): 97-104**



- LACHENAUD, Ph. and G. OLIVER. 2001.  
Variability in various agronomic traits of wild cocoa trees (*Theobroma cacao* L.) from the Camopi and Tanpok basins (French Guiana)  
*Plant Genetic Resources Newsletter* 128 : 35-40
- LACHENAUD, Ph., G. OLIVER and Ph. LETOURMY. 2001.  
Agronomic assessment of wild cocoa (*Theobroma cacao* L.) trees from the Camopi and Tanpok basins (French Guiana)  
*Ingenic Newsletter*, 6, 24-26.
- LACHENAUD, Ph., G. OLIVER and Ph. LETOURMY. 2000.  
Agronomic assessment of wild cocoa trees (*Theobroma cacao* L.) from the Camopi and Tanpok basins (French Guiana)  
*Plant Genetic Resources Newsletter*, n° 124 : 1-6
- LACHENAUD, Ph., F. BONNOT, OLIVER, G. 1999.  
Use of floral descriptors to study variability in wild cocoa trees (*Theobroma cacao* L.) in French Guiana.  
***Genetic Resources and Crop Evolution*, 46 : 491-500.**
- LACHENAUD, Ph. 1999.  
Le cacaoyer et sa culture.  
*Ingénieurs de la Vie*, n° 450, 57.
- LACHENAUD, Ph., D. CLEMENT et G. OLIVER. 1998.  
Premiers clones sélectionnés dans les descendants des cacaoyers (*Theobroma cacao*) autrefois cultivés en Guyane.  
*Plant Genetic Resources Newsletter*, n° 113 : 31-34.
- LACHENAUD, Ph., OLIVER, G. 1998.  
Influence d'éclaircies sur les rendements d'hybrides de cacaoyers.  
*Plantations, recherche, développement*, vol. 5, n°1, 34-40.
- LACHENAUD, Ph., V. MOOLEEDHAR et C. COUTURIER. 1997.  
Les cacaoyers spontanés de Guyane. Nouvelles prospections.  
*Plantations, recherche, développement*, vol. 4, n°1, 25-30.
- LACHENAUD, Ph., V. MOOLEEDHAR, Ch. COUTURIER. 1997  
Brief report on collection of wild cacao from the Euleupousing and Yaloupi rivers in French Guiana.  
*Ingenic Newsletter*, 3, 20-21.
- LACHENAUD, Ph. 1997.  
Genetic/taxonomic structuring of *Theobroma cacao* L. species. Fresh hypotheses  
*Ingenic Newsletter*, 3, 10-11.
- LACHENAUD, Ph. and M. DUCAMP. 1996  
Characterization and potential utilization of wild cacao from French Guiana.  
*Ingenic Newsletter*, 2, 8-9.
- LACHENAUD, Ph. 1995.  
Variations in the number of beans per pod in *Theobroma cacao* L. in the Ivory Coast. III. Nutritional factors, cropping effects and the role of boron.  
***Journal of Horticultural Science*, 70 (1) 7-13.**

- LACHENAUD, Ph. 1995.  
Variations in the number of beans per pod in *Theobroma cacao* L. in the Ivory Coast.  
II. Pollen germination, fruit setting and ovule development.  
***Journal of Horticultural Science*, 70 (1) 1-6.**
- LACHENAUD, Ph. 1994.  
Variations in the number of beans per pod in *Theobroma cacao* L. in the Ivory Coast.  
I. The role of pollen.  
***Journal of Horticultural Science*, 69 (6) 1123-1129.**
- LACHENAUD, Ph., D. CLEMENT, B. SALLEE et Ph. BASTIDE. 1994.  
Le comportement en Guyane de cacaoyers sélectionnés en Côte d'Ivoire.  
***Café, Cacao, Thé (Paris)*, 38, n°2, 91-102.**
- LACHENAUD, Ph. 1994.  
Description du remplissage incomplet des cabosses chez *Theobroma cacao* L. en Côte d'Ivoire.  
***Café, Cacao, Thé (Paris)*, 38, n°2, 81-89.**
- LACHENAUD, Ph. et B. SALLEE. 1993.  
Les cacaoyers spontanés de Guyane. Localisation, écologie et morphologie.  
***Café, Cacao, Thé (Paris)*, 37, n°2, 101-114.**
- LACHENAUD, Ph. 1991.  
Effet de quelques variables saisonnières sur la relation entre poids de cabosse et poids de fèves fraîches chez le cacaoyer. Bilan d'observations en Côte d'Ivoire.  
***Café, Cacao, Thé (Paris)*, 35, n°2, 113-120.**
- LACHENAUD, Ph. et O. SOUNIGO. 1991.  
Production de semences de cacaoyer en Côte d'Ivoire. Influence des proportions relatives des parents d'un champ semencier biclonal sur la quantité, la qualité et l'origine génétique des semences.  
***Café, Cacao, Thé (Paris)*, 35, n°2, 105-112.**
- LACHENAUD, Ph. 1987.  
L'association cacaoyer-bananier plantain. Etude de dispositifs.  
***Café, Cacao, Thé (Paris)*, 31, n°3, 195-202.**
- LACHENAUD, Ph. et G. MOSSU. 1985.  
Comparative study of the influence of two methods of management on the production factors of a cocoa farm.  
***Café, Cacao, Thé (Paris)*, 29, n°3, 197-200.**
- LACHENAUD, Ph. et G. MOSSU. 1985.  
Etude comparative de l'influence de deux modes de conduite sur les facteurs de rendement d'une cacaoyère.  
***Café, Cacao, Thé (Paris)*, 29, n°1, 21-30.**
- LACHENAUD, Ph. 1984.  
Une méthode d'évaluation de la production de fèves fraîches applicable aux essais entièrement "randomisés".  
***Café, Cacao, Thé (Paris)*, 28, n°2, 83-88.**

**En co-auteur :**

- POKOU N. D., N'GORAN J. A.K., **LACHENAUD Ph.**, ESKES A.B., MOTAMAYOR, J.C., SCHNELL R., KOLESNIKOVA-ALLEN M., CLEMENT D., SANGARE A. 2009  
Recurrent selection of cocoa populations (*Theobroma cacao* L.) in Côte-d'Ivoire: comparative genetic diversity between the first and second cycles.  
***Plant Breeding* 128 : 514-520**
  
- BASTIDE, Ph., D. PAULIN & **Ph. LACHENAUD**. 2008.  
Influence de la mortalité des cacaoyers sur la stabilité de la production dans une plantation industrielle.  
*Tropicultura* 26, 1, 33-38
  
- MOTAMAYOR, J.C., **LACHENAUD, PH.**, WALLACE DA SILVA, J., LOOR, G., KUHN, D., BROWN, J. & SCHNELL, R. 2008  
Geographic and genetic population differentiation of the Amazonian chocolate tree.  
PLoS One, October 2008, Vol. 3, Issue 10, e3311 (8 p.)
  
- PAULIN, D., M. DUCAMP, **PH. LACHENAUD**. 2008.  
New sources of resistance to *Phytophthora megakarya* identified in wild cocoa trees populations of French Guiana.  
***Crop Protection* 27: 1143-1147**
  
- TAHI, G. M., J. A. K. N'GORAN, O. SOUNIGO, **P. LACHENAUD** & A. B. ESKES. 2007.  
Efficacy of simplified methods to assess pod production in cocoa breeding trials.  
*Ingenic Newsletter*, 11, 7-11.
  
- ASSEMAT, S., **PH. LACHENAUD**, F. RIBEYRE, F. DAVRIEUX, J.-L. PRADON & E. CROS. 2005.  
Bean quality traits and sensory evaluation of wild Guianan cocoa populations (*Theobroma cacao* L.).  
***Genetic Resources and Crop Evolution*, 52 : 911-917**
  
- ESKES, A. B. and **PH. LACHENAUD**. 2004.  
A rootstock-scion experiment with cacao re-analysed for yield efficiency.  
*Ingenic Newsletter*, 9, 43-45.
  
- SOUNIGO, O., **Ph. LACHENAUD**, Ph. BASTIDE, C. CILAS, J. N'GORAN, C. LANAUD. 2003.  
Assessment of the value of doubled haploids as progenitors in cocoa (*Theobroma cacao* L.) breeding  
***Journal of Applied Genetics*, 44 (3), 339-353.**
  
- N'DOUME, C., **Ph. LACHENAUD**, A. HUSSARD, H. NGUYEN V. , A. FLORI. 2000.  
Etude de faisabilité pour l'élaboration d'une cartographie statistique d'inventaire des vergers café et cacao en Côte d'Ivoire par télédétection satellitale.  
*Bulletin de la SFPT*, 157, 3-10.
  
- PAULIN, D., G. MOSSU, **Ph. LACHENAUD** et C. CILAS. 1993.  
La sélection du cacaoyer en Côte d'Ivoire.  
Analyse du comportement de soixante-deux hybrides dans quatre localités.  
***Café, Cacao, Thé (Paris)*, 37, n°1, 3-20.**

- BEREAU, M., LACHENAUD, Ph. et P. PLANQUETTE. 1992.  
Le cacaoyer en Guyane française.  
*Cahiers d'Outre-mer*, 45, 179-180.
- LOTODE, R. et Ph. LACHENAUD. 1988.  
Méthodologie destinée aux essais de sélection du cacaoyer.  
***Café, Cacao, Thé (Paris)*, 32, n°4, 275-292.**
- LANAUD, C., Ph. LACHENAUD et O. SOUNIGO. 1988.  
Comportement en croisement des haploïdes doublés de cacaoyers.  
***Canadian Journal of Botany*, 66, 1986-1992.**
- LANAUD, C., O. SOUNIGO, Y. K. AMEFIA, D. PAULIN, Ph. LACHENAUD et D. CLEMENT. 1987.  
Nouvelles données sur le fonctionnement du système d'incompatibilité du cacaoyer et ses conséquences pour la sélection.  
***Café, Cacao, Thé (Paris)*, 31, n°4, 267-277.**

### 3.2 Communications orales lors de rencontres internationales.

#### En premier auteur :

- LACHENAUD, Ph. 2005.  
Genetic Effects of Inter-tree Competition in Mixed Cocoa Stands on Yield, Vigour, and Cropping Efficiency.  
Proceedings of the International Workshop on Cocoa Breeding for Improved Production Systems, 19-21/10/2003, Accra (Ghana), 110 - 117.
- LACHENAUD, Ph., O. SOUNIGO, G. OLIVER. 2005.  
Paramètres et structuration génétiques des cacaoyers spontanés de Guyane française, étudiés par électrophorèses d'iso-enzymes.  
Actes de la 14ème Conférence Internationale sur la Recherche Cacaoyère, Accra (Ghana), 13-18 /10/2003, vol. 1, 103-110.
- LACHENAUD, Ph. 2005.  
Densité évolutive en cacaoculture : la nécessité des éclaircies.  
Actes de la 14ème Conférence Internationale sur la Recherche Cacaoyère, Accra (Ghana), 13-18 /10/2003, vol. 1, 309-315.
- LACHENAUD, Ph. 2002.  
Le dilemme de la densité en cacaoculture, ou la nécessité des éclaircies.  
Conférence Internationale sur l'avenir des cultures pérennes, Yamoussoukro (Côte d'Ivoire), 5-9/11/2001.  
CD Rom, ISBN 2-87614-502-2.
- LACHENAUD, Ph., A. ESKES, J. A. K. N'GORAN, D. CLEMENT, I. KEBE, M. TAHI et C. CILAS. 2001.  
Premier cycle de sélection récurrente en Côte d'Ivoire et choix des géniteurs du second cycle.  
in : Actes de la 13ème Conférence Internationale sur la recherche cacaoyère, Kota Kinabalu (Sabah, Malaysia), 9-14 octobre 2000. Cocoa producer's alliance, Lagos (NGA), 11-22.

- LACHENAUD, Ph. 2000. Manual pollination techniques and verification of incompatibility. In : Working procedures for cocoa germplasm evaluation and selection : Proceedings. Rome : IPGRI, p. 98-99. CFC/ICCO/IPGRI Project Workshop, 1998-02-01/1998-02-06, Montpellier, France.
- LACHENAUD, Ph. 1994.  
Le remplissage incomplet des cabosses en Côte d'Ivoire.  
in : Actes de la 11ème Conférence Internationale sur la recherche cacaoyère, Yamoussoukro (CIV), Cocoa producer's alliance, Lagos (NGA), p.521-527.
- LACHENAUD, Ph. 1992.  
Recent cocoa germplasm conservation initiatives of IRCC in French Guiana. International Workshop on Conservation, Characterization and Utilization of Cocoa Genetic Resources, Trinidad, sept.1992, 253-255.
- LACHENAUD, Ph. 1988.  
La plantation en haies fruitières : une technique permettant l'association avec les cultures vivrières et leur stabilisation.  
10ème Conférence Internationale sur la Recherche Cacaoyère, Santo Domingo, mai 1987, 45-50.

**En co-auteur :**

- BASTIDE, Ph., Ph. AGUILAR, Ph. LACHENAUD, D. PAULIN, I. JIMMY, G. BOULETARE.  
Variabilité du rendement et mesures de la biomasse sur des cacaoyers adultes au Vanuatu.  
15<sup>ème</sup> Conférence Internationale sur la Recherche Cacaoyère, San José, Costa Rica, 9-14 octobre 2006, vol. I, pp. 291-297.
- PAULIN, D., M. DUCAMP, Ph. LACHENAUD.  
Evaluation des cacaoyers spontanés de Guyane française pour leur résistance à *Phytophthora megakarya*.  
15<sup>ème</sup> Conférence Internationale sur la Recherche Cacaoyère, San José, Costa Rica, 9-14 octobre 2006, vol. 1, pp. 41-47.
- TAHI, G. M., J. A. K. N'GORAN, Ph. LACHENAUD, O. SOUNIGO & A. B. ESKESES.  
Mise au point d'une méthode d'évaluation simplifiée de la productivité du cacaoyer.  
Fifth INGENIC Workshop on Cocoa Breeding for Farmers' Needs, San José, Costa Rica, 15-17/10/2006 (sous presse)
- N'GUESSAN, F., ESKESES, A.B. & LACHENAUD, Ph. 2005.  
Etude de la résistance du cacaoyer aux mirides : classification des grands groupes de cacaoyers en fonction de leur niveau de résistance ou sensibilité.  
Actes de la Conférence Internationale sur la Recherche Cacaoyère. 14, 2003-10-13/2003-10-18, Accra, Ghana, Vol. 1, 559-565
- SOUNIGO, O., J. N'GORAN, D. PAULIN, Ph. LACHENAUD, D. CLEMENT & A. B. ESKESES. 2005.  
Comparison of Values as Clones and as Progenitors for Yield, Vigour and Yield Efficiency: experiences from Côte d'Ivoire.  
Proceedings of the International Workshop on Cocoa Breeding for Improved Production Systems, 19-21/10/2003, Accra (Ghana), 62 - 65.

- N'GORAN, J., Ph. LACHENAUD, I. KEBE, F. N'GUESSAN, M. TAHI, D. POKOU, O. SOUNIGO, K. N'GORAN, A. ESKES. 2004. Selection and breeding activities in Côte d'Ivoire.  
Workshops on CFC/ICCO/IPGRI Projects. University of Reading, 28 March to 3 April 2004. CD Version.
- N'DOUME, C., Ph. LACHENAUD, A. HUSSARD, H. NGUYEN V., A. FLORI. 2002.  
Cartographie statistique d'inventaire des vergers café et cacao par télédétection satellitale.  
Conférence Internationale sur l'avenir des cultures pérennes, Yamoussoukro (Côte d'Ivoire), 5-9/11/2001. CD Rom, ISBN 2-87614-502-2.
- N'GORAN, J.A.K., C. MONTAGNON, J.-L. KONAN, Ph. LACHENAUD, H. LEGNATE. 2002.  
Apport du matériel végétal amélioré sur la durabilité des cultures pérennes.  
Conférence Internationale sur l'avenir des cultures pérennes, Yamoussoukro (Côte d'Ivoire), 5-9/11/2001. CD Rom, ISBN 2-87614-502-2.
- N'DOUME, C., Ph. LACHENAUD, A. HUSSARD, H. NGUYEN V., A. FLORI. 2001.  
Etude de faisabilité pour l'élaboration d'une cartographie statistique d'inventaire des vergers café et cacao en Côte d'Ivoire par télédétection satellitale.  
in : Actes de la 13<sup>ème</sup> Conférence Internationale sur la recherche cacaoyère, Kota Kinabalu (Sabah, Malaysia), 9-14 octobre 2000. Cocoa producer's alliance, Lagos (NGA), 1377-1382.
- EFRON Y., N'GORAN J.K.A., LACHENAUD, P. 2000. Evaluation of vigour, yield, pod and bean traits. In : Working procedures for cocoa germplasm evaluation and selection : Proceedings. Rome : IPGRI, p. 76-82. CFC/ICCO/IPGRI Project Workshop, 1998-02-01/1998-02-06, Montpellier, France.
- N'DOUME, C., Ph. LACHENAUD, A. HUSSARD, H. NGUYEN et A. FLORI. 1999.  
Etude de faisabilité pour l'élaboration d'une cartographie statistique d'inventaire des vergers café et cacao en Côte d'Ivoire par télédétection satellitale.  
Journées géographiques de Daloa, 22-26 mars 1999.
- CLEMENT, D., J. N'GORAN, D. PAULIN, Ph. LACHENAUD, O. SOUNIGO and A. ESKES. 1999.  
Amélioration génétique du cacaoyer en Côte d'Ivoire : nouvelle sortie variétale.  
in : Actes 12<sup>ème</sup> Conférence Internationale sur la Recherche Cacaoyère, Salvador, Bahia (Brasil), Lagos (NGA) Cocoa producer's alliance, p. 337-344.
- PAULIN, D., LACHENAUD, Ph., LANAUD, C., RISTERUCCI, A. M., LAURENT, V., N'GORAN, J. A. K., 1996.  
Utilisation des marqueurs morphologiques, isoenzymatiques et moléculaires pour l'étude de la diversité du cacaoyer (*Theobroma cacao* L.) In : CIRAD-CP. Rencontres cacao. Les différents aspects de la qualité. Actes du séminaire. Montpellier, 30/06/1995, p. 115.
- PAULIN, D., LAURENT, V., N'GORAN, J. A. K., RISTERUCCI, A. M., LACHENAUD, Ph., LANAUD, C. 1996.  
Use of morphological, isoenzyme and molecular markers in the study of cocoa (*Theobroma cacao*) diversity.  
EUCARPIA, Meeting on tropical plants, Montpellier, p. 269-270.

- ESKES, A.B., D. PAULIN, D. CLEMENT, J. A. K N'GORAN, O. SOUNIGO, Ph. LACHENAUD, C. CILAS, D. BERRY and A. YAGMPAM. 1995.  
Selection methods applied and genetic knowledge generated in cacao breeding in Côte d'Ivoire and Cameroon.  
International Workshop on cocoa breeding strategies, Kuala Lumpur, Malaysia, Oct. 1994.
- PAULIN, D., V. LAURENT, J. A. K. N'GORAN, A. M. RISTERUCCI, Ph. LACHENAUD, C. LANAUD. 1994.  
Use of morphological, isoenzyme and molecular markers in the study of cocoa (*Theobroma cacao* L.) diversity.  
Proceedings of the genetic resources section. Meeting of Eucarpia, mars 1994, Clermont-Ferrand.
- CLEMENT, D., D. PAULIN, Ph. LACHENAUD et O. SOUNIGO. 1994.  
Etude du comportement d'hybrides issus de clones hauts-amazoniens, bas-amazoniens et Trinitario, croisés avec des clones Catongo.  
in : Actes 11<sup>ème</sup> Conférence Internationale sur la Recherche Cacaoyère, Yamoussoukro (CIV), Lagos (NGA), Cocoa producer's alliance, p. 393-398.
- SOUNIGO, O., J. N'GORAN, N. COULIBALY, D. CLEMENT et Ph. LACHENAUD. 1994.  
Evaluation des clones de cacaoyers pour la productivité, la résistance aux mirides et la résistance à la pourriture des cabosses.  
in : Actes 11<sup>ème</sup> Conférence Internationale sur la Recherche Cacaoyère, Yamoussoukro (CIV), Lagos (NGA), Cocoa producer's alliance, p. 375-381.
- PAULIN, D., G. MOSSU, Ph. LACHENAUD, A. B. ESKES. 1994.  
Genetic analysis of a factorial crossing scheme with cacao hybrids tested in four locations in Ivory Coast.  
Proceedings International Cocoa Conference, Kuala Lumpur (Malaysia), sept. 1991, 73.
- ESKES, A. B., C. CILAS, D. PAULIN, D. CLEMENT, O. SOUNIGO, Ph. LACHENAUD and J. A. K. N'GORAN. 1992.  
CIRAD-IRCC Involvement in evaluation and utilization of cocoa germplasm.  
International Workshop on Conservation, Characterization and Utilization of Cocoa Genetic Resources, Trinidad, sept.1992, 389-397.
- N'GORAN, J. A. K., Ph. LACHENAUD, Ph. BASTIDE and D. PAULIN. 1992.  
Cocoa germplasm conservation initiatives in Côte d'Ivoire.  
International Workshop on Conservation, Characterization and Utilization of Cocoa Genetic Resources, Trinidad, sept.1992, 221-227.
- PAULIN, D., LACHENAUD, Ph., MOSSU, G., ESKES, A. B. 1992.  
Genetic analysis of a North Carolina design II crossing scheme with cacao (*Theobroma cacao*) hybrids tested in four locations in Côte d'Ivoire.  
13<sup>ème</sup> congrès EUCARPIA, Angers, juillet 1992, 567-568.
- LANAUD, C., O. SOUNIGO, D. PAULIN, Ph. LACHENAUD et D. CLEMENT. 1988.  
Nouvelles données sur le fonctionnement du système d'incompatibilité du cacaoyer et ses conséquences pour la sélection.  
10<sup>ème</sup> Conférence Internationale sur la Recherche Cacaoyère, Santo Domingo, mai 1987, 573-580.

### 3.3 Posters

- LACHENAUD, Ph., D. PAULIN, M. DUCAMP & J.-M. THEVENIN.  
Les clones spontanés GU de Guyane française : synthèse des résultats acquis et aide au choix des géniteurs.  
15<sup>ème</sup> Conférence Internationale sur la Recherche Cacaoyère, San José, Costa Rica, 9-14 octobre 2006, Vol. I, pp. 539-547
  
- ZHANG, D. and PH. LACHENAUD.  
Genetic variation and population structure in the wild cocoa germplasm from French Guiana.  
15<sup>ème</sup> Conférence Internationale sur la Recherche Cacaoyère, San José, Costa Rica, 9-14 octobre 2006 (sous presse)
  
- POKOU, N. D., N'GORAN J. A. K., KOLESHNIKOVA-ALLEN, M., ESKES, A., LACHENAUD, Ph., SANGARE, A.  
Diversité génétique des populations de cacaoyers (*Theobroma cacao* L.) obtenues après le premier cycle de sélection récurrente.  
15<sup>ème</sup> Conférence Internationale sur la Recherche Cacaoyère, San José, Costa Rica, 9-14 octobre 2006 (sous presse)
  
- LACHENAUD P., OLIVER G., LETOURMY P. 2001. Agronomic evaluation of spontaneous cocoa-trees (*Theobroma cacao* L.) in the Camopi and Tanpok basins (French Guiana).  
In : Actes de la 13<sup>ème</sup> Conférence Internationale sur la recherche cacaoyère, Kota Kinabalu (Sabah, Malaysia), 9-14 octobre 2000. Cocoa producer's alliance, Lagos (NGA), 169.
  
- N'DOUME, C., Ph. LACHENAUD, A. HUSSARD, H. NGUYEN V. , A. FLORI. 2000.  
A feasibility study for the implementation of statistical inventory mapping of coffee and cocoa plantations in Côte d'Ivoire by satellite remote sensing.  
XIX<sup>ème</sup> Congrès de la Société Internationale de Photogrammétrie et de Télédétection (ISPRS), AMSTERDAM, 16-23/7/2000.
  
- SOUNIGO, O., C. LANAUD, Ph. LACHENAUD et Ph. BASTIDE. 1994.  
Etude du comportement en croisement de quatorze haploïdes doubles de cacaoyers (*Theobroma cacao* L.) en Côte d'Ivoire.  
11<sup>ème</sup> Conférence Internationale sur la Recherche Cacaoyère, Yamoussoukro, Côte d'Ivoire, Juillet 1993.
  
- VINCENT, A., D. CLEMENT, Ph. BASTIDE et Ph. LACHENAUD. 1994.  
Etude de la répartition de la production et de son incidence sur la pourriture brune (*P. palmivora*) dans une parcelle clonale de Hauts-amazoniens.  
11<sup>ème</sup> Conférence Internationale sur la Recherche Cacaoyère, Yamoussoukro, Côte d'Ivoire, Juillet 1993.
  
- LACHENAUD, Ph. and O. SOUNIGO. 1994.  
Influence of several densities of pollinator trees in a biclonal seed garden in Côte d'Ivoire, on the quantity, quality and genetic origin of seeds.  
Proceedings International Cocoa Conference, Kuala Lumpur, Malaysia, sept. 1991, 575.



### 3.4 Divers

(dont chapitres d'ouvrages, en gras)

**- N'GORAN, J. A. K., Ph. LACHENAUD, I. B. KEBE, K. F. N. N'GUESSAN, G. M. TAHI, D. POKOU, O. SOUNIGO, K. N'GORAN & A. B. ESKES. 2007.**

Population breeding approaches applied in cocoa selection in Côte d'Ivoire.  
In: *Global Approaches to Cocoa Germplasm Utilization and Conservation*, A. B. Eskes and Y. Efron, Eds., pp. 35-40. CFC Amsterdam

**- N'GUESSAN, K. F., A. B. ESKES & Ph. LACHENAUD. 2007.**

Mirid resistance studies in Côte d'Ivoire: field observations on recent and cumulative damage.  
In: *Global Approaches to Cocoa Germplasm Utilization and Conservation*, A. B. Eskes and Y. Efron, Eds., pp. 170-176. CFC Amsterdam

**- NGUYEN, H., Ph. LACHENAUD et A. FLORI, CIRAD-CP. 1997.**

Cartographie analytique et statistique des vergers cacao et café de deux zones pilotes DALOA et SOUBRE de Côte d'Ivoire.  
CP SIC n° 859, octobre 1997 (60 p. + cartes).

**- FLORI, A., Ph. LACHENAUD, H. NGUYEN. 1997.**

Analyse statistique de l'enquête CIRAD-CCT dans les zones pilotes de DALOA et SOUBRE. RCI, janvier-février 1997.  
Doc n° CP-806, juin 1997 (12 p. + annexes).

**- LACHENAUD, Ph. 1993.**

Les cacaoyers spontanés de Guyane.  
INFOS, Recherche et Technologie (Crestig, Cayenne), 26, Janvier 1993.

**- LACHENAUD, Ph. 1991.**

Facteurs de la fructification chez le cacaoyer (*Theobroma cacao* L.). Influence sur le nombre de graines par fruit.  
Thèse de Doctorat, Institut National Agronomique PARIS-GRIGNON, 188 p.

**- LACHENAUD, Ph., D. LOUETTE, F. RUF. 1990.**

Bahia face à la crise.  
CIRAD-DSA, 63 p.

**- RUF, F., D. LOUETTE, Ph. LACHENAUD 1990.**

Le Brésil.  
In : *la compétitivité du cacao Africain*.  
Ministère de la Coopération-CIRAD (PARIS). p 238-257.

**- LACHENAUD, Ph. 1988.**

Les essais en haies fruitières en Côte d'Ivoire.  
In : *Agronomie du cacaoyer*. Paris, France, CIRAD-IRCC, 4 p. Journées Agronomiques de l'IRCC, 1988/09/06-09, Montpellier, France.

**- LACHENAUD Ph. 1988.**

La greffe - buts et techniques.  
In : *Journées d'étude sur le cacaoyer : amélioration du cacaoyer*. Montpellier, France, CIRAD-IRCC, n.p. (2 p.). Journées d'Etude sur le Cacaoyer, 1985/07/09-11, Montpellier, France.

- LACHENAUD, Ph. 1988.  
Modes de culture pour l'expression des potentialités du matériel amélioré.  
In : *Journées d'études sur le cacaoyer : amélioration du cacaoyer*. Montpellier, France, CIRAD-IRCC, n.p. (2 p.). Journées d'Etude sur le Cacaoyer, 1985/07/09-11, Montpellier, France.
- LANAUD, C., D. PAULIN et Ph. LACHENAUD. 1985.  
Note sur l'amélioration génétique cacaoyer en Côte d'Ivoire.  
Document interne IRCC, Direction de Côte d'Ivoire (14 p.).
- LACHENAUD, Ph., J. BIGNON. 1985.  
Contribution à l'étude de la pollinisation du cacaoyer.  
Le cacaoyer est-il insuffisamment pollinisé ?  
Document interne IRCC Côte d'Ivoire, 37 p.
- LACHENAUD, Ph. 1983.  
Problèmes posés par l'ombrage du cacaoyer. Evolution des techniques culturelles traditionnelles.  
Institut de Recherches du Café et du Cacao, 25ème anniversaire, 1958-1982, 79-80.
- LACHENAUD, Ph. 1983.  
La culture du cacaoyer en haies fruitières. Premiers résultats (Divo, Côte d'Ivoire)  
Institut de Recherches du Café et du Cacao, 25ème anniversaire, 1958-1982, 81.
- LACHENAUD, Ph. 1983.  
Production de semences hybrides de cacaoyers. Les champs semenciers.  
Institut de Recherches du Café et du Cacao, 25ème anniversaire, 1958-1982, 89-90.
- LACHENAUD, Ph. 1982.  
Comportement de jeunes cacaoyères en grande saison sèche (Divo).  
Gerdat-IFCC (Divo, 5 p.)

### **3.5 Rapports de mission**

- LACHENAUD, Ph. 2009.  
Une filière cacao en Martinique. Rapport de mission (7-11 juin 2009).  
Cirad-BIOS, UPR 31, N° A-31 2009/04, juin 2009 (15 p.).
- LACHENAUD, Ph. 2008.  
Rapport de mission en Guyane. Projet FEDER « DICACAO »  
24 juin – 5 juillet 2008-09-01  
CIRAD – BIOS, UPR 31, n° 2199, juillet 2008.
- LACHENAUD, Ph. 2008.  
Evaluation et sauvegarde de la collection de cacaoyers de Guyane.  
Rapport de mission. 10-26 janvier 2008.  
CIRAD-BIOS, UPR 31, n° 2159, Février 2008.
- DUCAMP, M. & LACHENAUD, Ph. 2007.  
Evaluation et sauvegarde de la collection de cacaoyers de Guyane  
Rapport de mission (3-18 juin 2007), CIRAD-BIOS, n° 2100-07

- LACHENAUD, Ph. 2007.  
Sauvegarde de la collection de cacaoyers de Guyane.  
Rapport de mission. 10-20 décembre 2006.  
Cirad-UPR 31, n° 2035-07.
- LACHENAUD, Ph. 2006.  
Sauvegarde de la collection de cacaoyers de Guyane.  
Rapport de mission. 7-14 décembre 2005.  
CP SIC n° 1896-2006. Cirad-Cultures pérennes.
- MONTAGNON, C., E. SOMARRIBA, Ph. LACHENAUD. 2006.  
Lineamientos para el Plan Estratégico de Cacao, Nicaragua  
Cirad-CATIE, Managua, 14 febrero 2006 (9 p.)
- LACHENAUD, Ph. 2005.  
Project on "Revitalization of the Honduran cocoa sector" TechnoServe Honduras.  
Mission Report (4-17 September 2005)  
CP SIC N° 1872-2005. Cirad Tree Crops.
- LACHENAUD, Ph. 2005.  
Sauvegarde de la collection de cacaoyers de Guyane.  
Rapport de mission. 4-18 mars 2005.  
CP SIC n° 1813. Cirad-Cultures pérennes.
- LACHENAUD, Ph. 2004.  
Sauvegarde de la collection de cacaoyers de Guyane.  
Rapport de mission. 26 février-29 mars 2004.  
CP n° 1709. Programme cacao. Cirad-Département Cultures pérennes.
- LACHENAUD, Ph. 2003.  
14<sup>ème</sup> Conférence Internationale sur la Recherche Cacaoyère. Accra (Ghana) 13-18 octobre 2003. 4<sup>ème</sup> Atelier International (INGENIC) & 4<sup>ème</sup> Séminaire International (INCOPED). Accra (Ghana) 19-21 octobre 2003. Rapport collectif de participation.  
Doc n° CP-1659, décembre 2003.
- LACHENAUD, Ph. 2003.  
Sauvegarde de la collection de cacaoyers de Guyane.  
Rapport de mission (II) (5-18 février 2003)  
Doc n° CP-1591, mars 2003.
- LACHENAUD, Ph. 2002.  
Rapport de la mission conjointe INRA-CIRAD au Cameroun (23-30 novembre 2002)  
Doc n° CP-1570, déc. 2002.
- LACHENAUD, Ph. 2002.  
Sauvegarde de la collection de cacaoyers de Guyane.  
Rapport de mission (17-29 avril 2002), Doc n° CP-1490, mai 2002.
- LACHENAUD, Ph. 2001.  
Situation du programme cacao en Guyane et état de son dispositif de recherche.  
Rapport de mission (20-27 février 2001)  
Doc n° CP-1489, mars 2001.

- LACHENAUD, Ph. 1998.  
Le programme cacao en Guyane. Rapport de mission  
22 novembre au 2 décembre 1998.  
Doc n° CP-1061, 12-1998.
- LACHENAUD, Ph. 1997.  
Rapport de mission en Côte d'Ivoire, du 13/1 au 23/2/1997.  
Doc n° CP-746, mars 1997 (13 p. + annexes).
- NGUYEN, H., Ph. LACHENAUD. 1996.  
Rapport de mission en Côte d'Ivoire (du 21 au 31 octobre 1996)  
Doc n° Cp-692, Nov. 1996 (12 p. + annexes).
- ESKES, A., O. SOUNIGO, Ph. LACHENAUD. 1992.  
Compte-rendu de mission : atelier de travail sur les Ressources Genetiques du cacao,  
Trinidad (13-18 septembre 1992). Visite au Venezuela (18-22 septembre 1992) (23 p.)  
Document IRCC-CIRAD.
- LACHENAUD, Ph. 1989.  
Rapport de mission au Gabon (3/12/89 - 7/12/89).  
Document IRCC-SOCA 2 (8 p.).
- LACHENAUD, Ph. 1989.  
Rapport de mission en République Démocratique de São Tomé et Príncipe. (7-  
11/12/89). Document IRCC-SOCA 2. (7 p.).
- LACHENAUD, Ph. 1989.  
Rapport de mission en République Démocratique de São Tomé et Príncipe. (31/3/89 au  
4/4/89). Document IRCC-SOCA 2 (11 p.).
- LACHENAUD, Ph. 1989.  
Rapport de mission en Equateur et au Pérou (21-31 janvier 1989). CIRAD-IRCC (15 p.)
- LACHENAUD, Ph. 1988.  
Rapport de mission en République Démocratique de São Tomé et Príncipe, du 28 avril  
au 2 mai 1988. Document IRCC-SOCA 2 (7 p.).
- LACHENAUD, Ph. 1988.  
Rapport de mission au Gabon auprès de la SOCAGAB, du 22 au 28 avril 1988.  
Document IRCC-SOCA 2 (9 p.).
- LACHENAUD, Ph. 1987.  
Rapport de mission en République Démocratique de São Tomé et Príncipe, du 19 au 26  
juin 1987.  
Document IRCC-SOCA 2 (28 p.).
- LACHENAUD, Ph. 1987.  
Rapport de mission au Gabon  
Document IRCC-SOCA 2 (10 p.).
- LACHENAUD, Ph. 1986.  
Rapport de mission à São Tomé.  
Document interne IRCC (confidentiel, 11 p.).

## IV Synthèse des résultats scientifiques

### L'amélioration génétique du cacaoyer. Des ressources génétiques forestières aux variétés cultivées.

#### Introduction

Le cacaoyer (*Theobroma cacao*, Linné 1753) est un arbre de la famille des Malvacées, originaire des forêts pluviales néotropicales, depuis le sud du Mexique (où il ne pourrait être que feral) jusqu'au nord de la Bolivie. Deux sous-espèces géographiques sont reconnues, *T. cacao* subsp. *cacao* et *T. cacao* subsp. *sphaerocarpum* (Chevalier) Cuatrecasas 1964, qui correspondent aux deux principaux groupes cultivés, appelés Criollo et Forastero (le troisième, Trinitario, est un hybride entre les deux autres). La connaissance de la structuration génétique de l'espèce a été affinée depuis (Lanaud *et al.*, 1999 ; Motamayor *et al.*, 2002, 2008) : l'existence des deux sous-espèces est maintenant contestée, au profit de celle de plusieurs groupes morpho-géographiques. L'un de ces groupes est constitué par les cacaoyers spontanés de Guyane française.

Le cacaoyer, qui peut atteindre à l'état sauvage un développement important (25 m de hauteur et 20 m de diamètre de frondaison), est une plante cauliflore : les inflorescences, et donc les fruits, sont localisés sur le tronc et les branches. Sur le tronc et les branches principales, les zones d'apparition des inflorescences évoluent en massifs appelés "coussinets floraux", qui produisent des fleurs pendant toute la vie de l'arbre. L'inflorescence est une cyme bipare à courtes ramifications (1 mm environ). La fleur, petite, est régulière, complète et pentamère. Le fruit, la "cabosse", est exploité pour ses graines. Une cabosse normale contient de 30 à 60 graines entourées d'un abondant mucilage sucré qui, fermentées et séchées (appelées alors "fèves"), constituent le cacao marchand, matière première du chocolat. Le cacaoyer, domestiqué en Amérique centrale par les Mayas et révélé aux Européens en 1502, fut ensuite répandu par ces derniers dans les zones favorables de tous les continents.

J'ai commencé à travailler en amélioration du cacaoyer en 1977, à l'IFCC (Institut Français du Café et du Cacao), comme VSNA<sup>1</sup>, en Côte d'Ivoire. J'ai été embauché ensuite comme ingénieur-chercheur en 1981. Depuis cette époque, mes travaux sur le cacaoyer ont concerné deux aspects principaux :

- L'amélioration génétique et la sélection des variétés en Côte d'Ivoire ;
- Les ressources génétiques sauvages de Guyane.

En parallèle, et fréquemment en liaison avec ces deux domaines principaux, j'ai également travaillé en :

- Phytotechnie (problématiques du greffage, de la densité, des concurrences) ;
- Physiologie de la production et élaboration du rendement (cf ma thèse : Lachenaud, 1991) ;
- Télédétection des cacaoyères.

Dans cette synthèse, seuls seront abordés les deux premiers points.

---

<sup>1</sup> Volontaire du Service National Actif

#### 4-1 Amélioration génétique et sélection en Côte d'Ivoire

J'ai effectué trois séjours de longue durée en RCI : de novembre 1977 à avril 1979, de mars 1981 à juin 1988 et de septembre 1997 à juillet 2002, soit environ 13 ans et demi en tout. J'ai pu m'impliquer dans les domaines suivants :

##### 4-1-1 Les variétés hybrides des générations 1975 et 1979.

Après une première phase de sélection massale dans le matériel végétal utilisé localement (Forastero « Amelonado ouest-Africain »), l'amélioration du cacaoyer en Côte d'Ivoire s'est orientée vers la création d'hybrides de clones. Ainsi, depuis la fin des années 50, des Forasteros Haut-Amazoniens (d'abord de niveau G2, puis ensuite G0 et G1, y compris des haploïdes doublés ; Lanaud *et al.*, 1988) ont été croisés avec des Forasteros Bas-Amazoniens Amelonados "locaux" ou des Trinitarios. Des centaines d'hybrides ont ainsi été créés et comparés dans des essais en paires simples ("single pairs"). Les meilleurs croisements ont été distribués aux planteurs à partir de 1974 (une douzaine de familles). Initialement, les critères de sélection étaient avant tout la productivité et la taille des fèves, et secondairement, les résistances aux divers aléas, dont la pourriture brune (causée par *Phytophthora palmivora*) et les punaises mirides. Les descendances hybrides vulgarisées, avec des rendements pouvant atteindre ou dépasser 2500 kg/ha de cacao marchand en station de recherche (Besse, 1977), ont nettement surclassé le vieux matériel Amelonado pour ce critère, mais également pour la vigueur juvénile (facilitant l'implantation) et la tolérance aux mirides, fléau de la cacaoculture ivoirienne. Utilisés tels que distribués (une douzaine seulement de familles F1) ou plus souvent sous forme de descendances produites chez les planteurs lors de croisements naturels entre individus de diverses F1, les hybrides (au sens large) ont été globalement très appréciés, et dans certaines régions, les Amelonados sont en voie de disparition.

En règle générale, pour la productivité, les hybrides à mâle Amelonado se sont montrés supérieurs à ceux comportant un mâle Trinitario. Toutefois, le minimum commercial de 1 g de moyenne pour le poids moyen des fèves a parfois imposé de garder des géniteurs Trinitarios (à grosses fèves). En plus d'une taille de fève plus grande, les hybrides vulgarisés présentent certains avantages technologiques par rapport à l'Amelonado, par exemple un taux de matière grasse plus élevé (Besse, 1977). Toutefois, la base génétique de ce matériel alors utilisé par les planteurs était véritablement étroite.

Lors de mon premier séjour, j'ai pu participer à la plantation des champs semenciers de la Satmaci (Société de développement), représentant environ 150 Ha, en trois sites. Il s'agissait des formules hybrides de la première génération (Besse, 1977). J'ai été impliqué dans toutes les opérations (multiplication des clones parents par bouturage, gestion des parcs-à-bois, préparation des parcelles, plantation, suivi). Ces champs semenciers ont permis à la Côte d'Ivoire de devenir le premier producteur mondial.

A partir de 1979, de nouvelles combinaisons hybrides ont été créées par Mossu (Paulin *et al.*, 1993) et testées dans un réseau multilocal d'essais. Ces hybrides étaient nettement plus variés que les premiers.

Etant revenu en RCI, sur la station de Divo, en mars 1981, j'ai pu suivre, pratiquement depuis les premières observations (vigueur juvénile), l'essai A19/1 (un des cinq du réseau initial, planté en juin 1979 à Divo) et planter un autre essai (A18/1), en mai 1981, soit 95 descendances en tout, en « randomisation totale », avec des effectifs familiaux respectivement de 20 et 40. Après plus de 10 ans de suivi, les résultats du réseau d'essais

ont été co-publiés en 1993 (Paulin *et al.*, 1993). En 1988, après une analyse de l'ensemble des essais de sélection cacaoyère plantés à Divo, dont les protocoles étaient souvent trop différents, avec des témoins parfois absents, j'ai pu planter un essai synthétique, D15/2, regroupant les meilleures combinaisons hybrides repérées sur la station. Les résultats de l'essai D15/2 furent co-publiés en 1999 (Clément *et al.*, 1999) : ils représentent la première sortie variétale en Côte d'Ivoire depuis la génération d'hybrides de 1975. Il s'agit de 7 familles proposées en mélange, présentant une meilleure résistance à la pourriture brune que les hybrides précédents, pour un gain de productivité de 18 % par rapport à la moyenne des témoins de la génération précédente. Les clones femelles impliqués sont : PA 150, P7, NA 32, T79/501, T60/887, T85/799 et UPA 409, tous Forasteros hauts-Amazoniens, et les mâles IFC 2, IFC 5 (Amelonados « locaux ») et POR (Trinitario du Venezuela)

Entre 1981 et 1988, j'ai pu également travailler sur la méthodologie des essais de sélection en « randomisation totale » (Lachenaud, 1984 ; Lotodé et Lachenaud, 1988 ; Lachenaud et Sounigo, 1991), faire diverses introductions de matériel végétal à partir des stations de quarantaine (et en particulier du matériel végétal originaire de Guyane, via Montpellier) et planter, en 1987 à Divo, avant que les résultats définitifs du réseau d'essais 1979 ne soient connus, quatre champs semenciers (un par famille hybride) qui sont encore utilisés actuellement. En poste en Guyane, j'ai pu étudier dans un essai comparatif d'hybrides planté en 1984 (en « randomisation » totale), le comportement des hybrides ivoiriens de la génération précédente (Besse, 1977), et en publier les résultats (Lachenaud *et al.*, 1994). J'ai donc pu acquérir une très bonne connaissance des hybrides vulgarisés en Côte d'Ivoire.

#### 4-1-2 Le programme de sélection récurrente réciproque (SRR)

Depuis 1990, le programme d'amélioration génétique du cacaoyer en Côte d'Ivoire s'est orienté vers la création de variétés certes toujours productives (le niveau atteint dès 1975 est considéré comme acceptable, et on vient de voir que la sortie variétale de 1999 présentait déjà un progrès de 18 %), mais présentant une meilleure adaptation au milieu, particulièrement quant à la tolérance aux pourritures (surtout celles causées par *P. palmivora*) et aux insectes (Paulin et Eskes, 1995 ; Sounigo *et al.*, 1999). Il était donc nécessaire de prendre en compte de nouveaux critères de sélection, d'élargir la base génétique du matériel distribué et d'adopter des méthodes d'amélioration plus efficaces. Un schéma de sélection, basé sur l'amélioration récurrente de populations complémentaires à bases génétiques élargies, a donc été envisagé (Clément *et al.*, 1994). Il devait assurer, sur plusieurs « cycles », un cumul de gènes favorables (dont ceux de résistances), tout en maintenant une variabilité génétique importante. Bien que la sortie variétale (descendances ou clones) soit possible à tout moment du programme, y compris donc pendant les deux premiers cycles de brassage intra-populations, elle n'est envisagée à dessein que lors des croisements entre populations améliorées à l'issue des deux premiers cycles. Etant donné l'expérience acquise avec les premiers hybrides, le choix de deux populations de base complémentaires s'est donc porté sur les Forasteros Haut-Amazoniens (HA) d'une part et les Forasteros Bas-Amazoniens et Trinitarios d'autre part (BA+T). La seconde population est donc une population composite, à créer lors du premier cycle de brassage (Fig. 1).

Le choix des clones constitutifs du premier cycle a reposé sur leurs valeurs propres ou en croisement (connues localement ou par la littérature), l'information disponible à l'époque sur la structuration génétique de l'espèce (Lanaud, 1987) et leurs origines géographiques. Les parcelles ont été plantées en 1991-1992, à Divo, et suivies jusqu'en 1998-99.

J'ai été affecté de nouveau en RCI en septembre 1997, pour prendre la responsabilité du programme de SRR, c'est-à-dire, en pratique, clôturer les essais du premier cycle, analyser les résultats, les publier et mettre en place le second cycle. Ces activités s'inscrivaient dans le cadre d'un projet CFC/ICCO/IPGRI intitulé « Cocoa Germplasm utilization and conservation: a global approach ».

La sélection des géniteurs du second cycle de brassage est du type "individu-famille". Les meilleures familles sont identifiées sur la base de leurs performances en test, mais aussi sur l'AGC des parents. Les critères de sélection retenus pour la sélection des familles ont été les suivants :

- la mortalité ;
- la productivité (Lachenaud, 1984, 1991);
- le rapport Production-vigueur (« Cropping, ou Yield, Efficiency »), c'est-à-dire le rapport de la production cumulée à la section en cm<sup>2</sup> à 50 cm du sol à la clôture de l'essai (Lotodé et Lachenaud, 1988);
- le pourcentage de cabosses pourries ;
- le poids moyen d'une cabosse saine, surtout utile dans la population (BA+T), car bien corrélé avec le poids moyen d'une fève ;
- le classement des géniteurs pour leur réaction à *P. palmivora*, évaluée par le "test-feuille" (Tahi *et al.*, 2000).

Les résultats du premier cycle (cf Tableaux 1 et 2) et la sélection des géniteurs du second ont été publiés (Lachenaud, *in* Eskes, 1999 ; Lachenaud *et al.*, 2001). En 2000 et 2001, j'ai pu planter 5 parcelles (4 à Divo, une à Abengourou, soit 4,7 Ha en tout) liées au deuxième cycle du programme de SRR, comprenant environ 190 croisements, plus les témoins.

Le chercheur ivoirien actuellement en charge du programme (M. Tahi) est venu à Montpellier en avril-mai 2008 pour analyser les données disponibles issues de ces parcelles : les premiers résultats sont très encourageants (Tab. 3). Cependant, seuls pour l'instant les résultats concernant l'évolution de la diversité entre les deux premiers cycle sont en cours de publication (Pokou *et al.*, 2008). Les autres résultats devraient être publiés vers 2011-12.

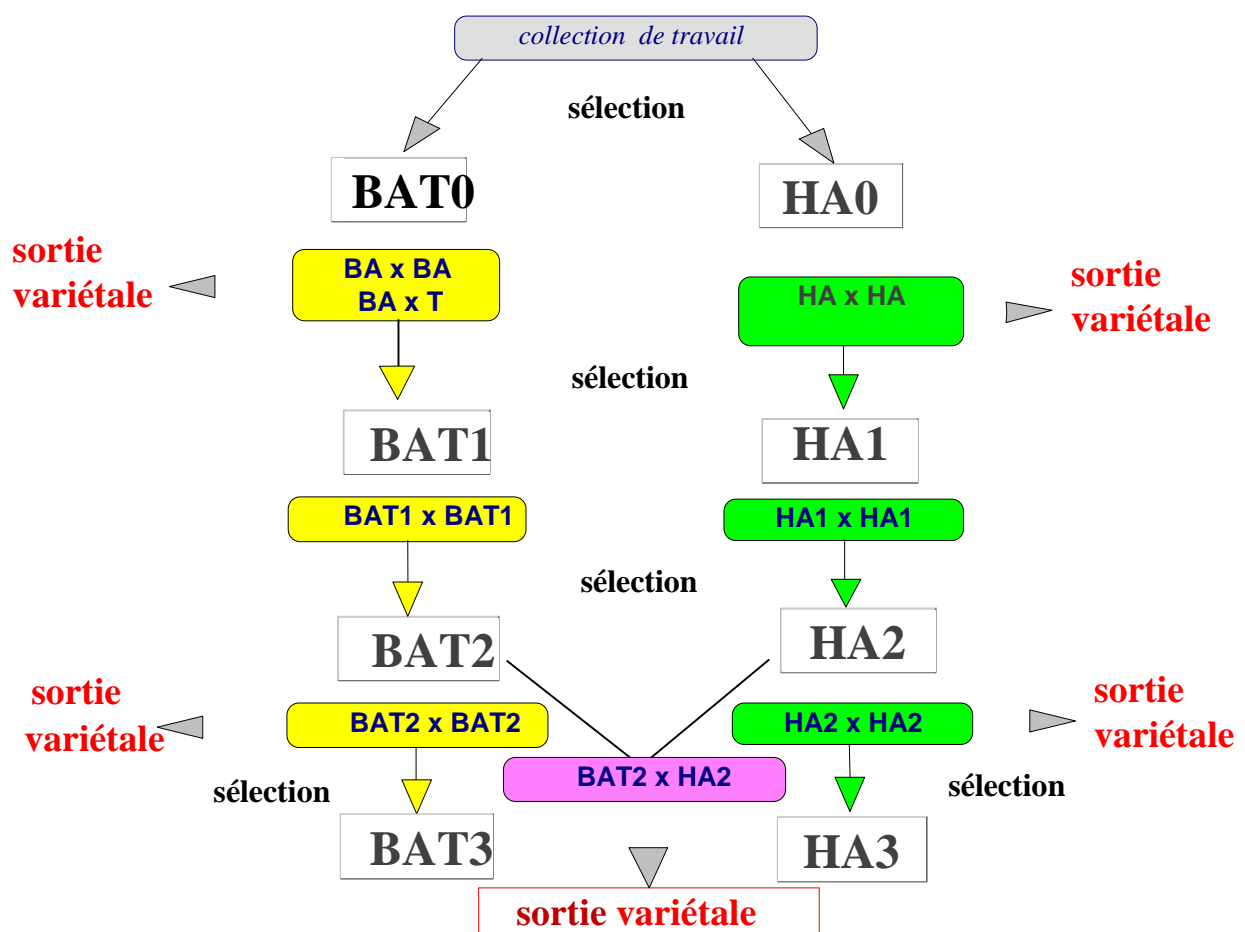
Egalement, à l'issue du premier cycle, 7 familles ont pu être sélectionnées pour essais de confirmation en sortie variétale. Elles présentent un progrès considérable par rapport aux précédents hybrides (y compris en matière de productivité) et ont été incluses (pour 6 d'entre elles), en 2001, dans un essai planté à Abengourou (Tab. 4).

#### 4-1-3 L'utilisation des haploïdes doublés

A partir de 1982, j'ai pu planter et suivre à Divo deux essais de C. Lanaud et un de G. Mossu comprenant des géniteurs haploïdes doublés (D7, E2/1, E2/2, pour un total de 84 familles, y compris les témoins), parallèlement à la recherche d'haploïdes. Certains résultats ont été co-publiés (Lanaud *et al.*, 1988 ; Sounigo *et al.*, 2003). Ils ont montré qu'il était possible de créer des familles intéressantes en croisant deux parents haploïdes doublés (moyennant un certain choix des géniteurs). Ces familles n'étaient toutefois pas systématiquement plus homogènes (pour les critères de sélection) que celles avec un (ou deux) géniteurs diploïdes « normaux ». Les résultats ont également montré qu'obtenir des haploïdes doublés à partir de géniteurs prometteurs (à partir d'un seul cycle d'autofécondation) était un bon moyen de les améliorer. Dans le programme de SRR figure un clone haploïde doublé (H 1258).



**Figure 1** : le schéma du programme de Sélection Récurrence et Réciproque du cacaoyer en Côte d'Ivoire (d'après Clément *et al.*, 1994). Deux cycles de brassage intra-groupes précèdent la première confrontation inter-groupes (BAT2 x HA2). Le cycle 3 pourra être suivi d'autres cycles.



**Tableau 1 :** synthèse des analyses de la variance (type H3 SS) réalisées sur l'ensemble des croisements HA x HA du premier cycle de SR en RCI, pour 4 critères de sélection (TS = très significatif, HS = hautement significatif, THS = très hautement significatif, NS = non significatif), d'après Lachenaud *et al.* (2001)

Critère	Signification des effets :			Meilleurs géniteurs
	♀	♂	♀ x ♂	
Production	TS	THS	NS	SCA 6, MO 81, IMC 57 AMAZ 15-15, PA 150 NA 32,
Production / vigueur	THS	THS	TS	SCA 6, AMAZ 15-15 T 60/887, PA 150, MO 81, T 79/501
Pertes par pourritures	NS	HS	NS	IMC 67, MO 98, IMC 57, PA 4, T 60/887, PA 150 IMC 78, SCA 6
Poids moyen de cabosse	THS	THS	NS	IMC 78, MO 81, AMAZ 15-15, IMC 6, UPA 134, T 60/887

**Tableau 2 :** synthèse des analyses de la variance (type H3 SS) réalisées sur l'ensemble des croisements (BA+T) x (BA+T) du premier cycle de SR en RCI, pour 4 critères de sélection (HS = hautement significatif, THS = très hautement significatif, NS = non significatif), d'après Lachenaud *et al.* (2001)

Critère	Signification des effets :			Meilleurs géniteurs
	♀	♂	♀ x ♂	
Production	THS	THS	THS	IFC 303, W41, CC 10 ICS 84, IFC 304, WA 40 IFC 1, IFC 371
Production / vigueur	THS	THS	THS	IFC 303, CC 10, WA 40 ICS 84, MAT 1-6, IFC 304
Pertes par pourritures	THS	NS	THS	IFC 6, GS 29, VENC4-11 ACU 85, IFC 14, SNK 12, N 38, ICS 89
Poids moyen de cabosse	THS	HS	NS	SNK 12, W 41, GS 29 CC 10, VENC4 -11, ICS 95

**Tableau 3 :** Moyennes des divers hybrides et groupes (ajustées par rapport aux témoins, pour les variables PP (production potentielle), CP (cabosses pourries), RPVIG (rapport production / vigueur), NCab (nombre total de cabosse par arbre), PMCab (poids moyen d'une cabosse) et Sec (section), d'après M.Tahi (rapport de stage 2008 – comm. pers.)

Groupes	Nombre de familles	PP (kg de cab.)	CP (%)	RPVIG (kg/cm <sup>2</sup> )	NCab	PMCab (kg de cab.)	Sec (cm <sup>2</sup> )
Familles du test intergroupes	6	103,9 a	14,7 ab	0,68 a	198,8 b	0,52 a	162,8 a
Hybrides 1979	4	59,5 b	13,4 ab	0,42 b	100,1 cd	0,49 a	149,5 ab
Hybrides avec Guyanais	10	110,9 a	9,4 a	0,78 a	249,2 a	0,46 ab	155,4 ab
HA <sub>2</sub>	75	64,0 b	7,9 a	0,47 b	134,5 c	0,44 ab	140,9 abc
(BA+T) <sub>2</sub>	70	25,4 c	12,9 ab	0,22 c	54,7 de	0,42 ab	111,9 ed
HA <sub>1</sub>	78	60,8 b	15,7 ab	0,46 b	128,8 c	0,41 ab	132,6 bcd
Hybrides 1975 (Besse)	10	53,9 b	18,5 b	0,46 b	96,25 cd	0,38 b	118,7 cd
(BA+T) <sub>1</sub>	116	24,4 c	13,8 ab	0,25 c	30,42 e	0,36 b	92,4 e

Les moyennes suivies des mêmes lettres sont statistiquement identiques (Test de Student Newman et Keuls au seuil de 5 %)

**Tableau 4 :** familles pré-sélectionnées pour la sortie variétale, à l'issue du premier cycle de brassage, avec \* : moyenne, \*\* : bonne, \*\*\* : très bonne performance, (n) : classement dans l'essai. (le témoin est un hybride de la génération 1979). D'après Lachenaud *et al.*, (2001)

Croisements	Production (en % du témoin)	Production/vigueur	Pourritures
MOQ 413 x SCA 6	236	*** (1)	**
POR x T60/887	209	*** (3)	**
PA 150 x POR	133	**	**
SCA 6 x LF 1	125	***	**
IFC 303 x IFC 1	168	*** (3)	*
IFC 29 x IFC 303	166	*** (4)	*
N 38 x GU 133/1	156	*** (1)	***

## 4-2 Les cacaoyers spontanés de Guyane

En Guyane française, l'histoire de la cacaoculture se déroule de 1734 aux débuts du XX<sup>ème</sup> siècle, et connaît son apogée vers 1840, où quelques cinquante tonnes d'un cacao réputé de qualité supérieure étaient produites annuellement. La provenance du matériel végétal alors utilisé dans les plantations reste inconnue (Lachenaud & Sallée, 1993). L'utilisation des cacaoyers spontanés locaux, si elle ne peut être totalement exclue, est sans aucun doute restée marginale (Lanaud, 1987).

Depuis 1729 l'existence de "forêts" de cacaoyers sauvages est mentionnée par les explorateurs du sud de la Guyane. Les localisations indiquées, assez imprécises, restreignent toutefois leur présence aux berges des rivières Kérindioutou (nom de l'Oyapok dans son cours supérieur), Camopi, Yaloupi et Euleupousing, toutes affluents de l'Oyapok, frontière actuelle entre la Guyane et le Brésil. Également mentionnés, les cours supérieurs de la rivière Tanpok et de ses affluents, bien qu'appartenant au bassin du Maroni, se situent cependant dans cette même région. Aucun témoignage consistant, passé ou actuel, ne fait état de l'existence de véritables cacaoyers spontanés ailleurs en Guyane (dans ses limites actuelles).

J'ai été affecté en Guyane d'octobre 1988 à juin 1995, puis ai continué à superviser les activités locales jusqu'à aujourd'hui.

Depuis 1978, le Cirad (à l'époque, IFCC, puis en 1981, IRCC) s'est fixé comme objectif l'étude des cacaoyers de Guyane, d'abord ceux anciennement cultivés (Clément, 1986), que l'on pensait issus des cacaoyers sauvages locaux, puis les cacaoyers spontanés (prospection, collecte, sauvegarde, caractérisation, évaluation), dont les populations, d'accès particulièrement difficile, sont situées en zone indienne protégée (extrême sud-est du département). Le but de ces études est bien entendu d'utiliser, si possible, ces cacaoyers "inconnus" dans les programmes d'amélioration génétique de cette plante. J'ai été personnellement impliqué dans tous les aspects liés à cet objectif, depuis la collecte en forêt primaire, la sauvegarde *ex situ*, la caractérisation et l'évaluation, l'étude de la diversité et de la structuration génétique, la sélection de géniteurs, la mise à disposition des sélectionneurs et l'utilisation dans les programmes d'amélioration (Lachenaud *et al.*, 2005).

### 4-2-1 Prospection et collecte

J'ai pu organiser (et participer à) deux prospections en forêt primaire :

- en 1990 : rivières Kérindioutou et Oyapok

Cette prospection (29 juin - 17 juillet 1990) a concerné le cours supérieur de l'Oyapok, appelé Kérindioutou en amont du village amérindien de Trois-Sauts. Trois populations furent identifiées et collectées : Borne 7, vers les sources de la Kérindioutou, Ker, sur le cours aval de la Kérindioutou et Pina, sur l'Oyapok proprement dit (Lachenaud et Sallée, 1993).

- en 1995 : rivières Oyapok, Euleupousing et Yaloupi

Du 13 au 26 avril 1995, dans le cadre d'un projet F.I.C. (Fonds Interministériel Caraïbes, France) associant le Cirad et le Cocoa Research Unit (C. R. U.) de l'University of the West Indies (Trinidad et Tobago), une seconde prospection sur le haut-Oyapok et ses affluents fut entreprise. Deux nouvelles zones à cacaoyers furent découvertes sur les berges des criques Euleupousing et Yaloupi, (Elp et Yal) et quelques prélèvements furent effectués le long du fleuve Oyapok (Lachenaud *et al.*, 1997).

#### 4-2-2 Sauvegarde

La sauvegarde *ex situ* des représentants des pieds-mères sauvages (il s'agit alors soit de semenceaux issus de descendance libres, soit plus rarement de clones des pieds-mères) s'effectue en parcelles de collection, sur la station de Paracou-Combi (commune de Sinnamary). Il en va de même des ortets sélectionnés sur place après caractérisation et évaluation. La sauvegarde peut aussi être effectuée en partie en station de quarantaine. Le germplasma GU, principalement prospecté en 1987 (7 pieds-mères furent collectés en 1985) est toujours bien représenté plus de vingt ans après sa collecte : 94 % des pieds-mères ont encore des représentants en collections, en Guyane ou ailleurs, ce qui est un résultat assez exceptionnel. En effet, Bartley (2005) fait remarquer que le Brazilian Genetic Resources Program a perdu plus de 50 % des pieds-mères collectés depuis 1976. Pour les prospections de 1990 et 1995 (Clones Borne 7, Ker, Pina, Elp, Yal etc.), 81 % des pieds-mères collectés sont toujours représentés en collection.

Les bons résultats du programme du Cirad peuvent être expliqués, en partie, par le fait que pratiquement seules des cabosses ont été prélevées sur les pieds-mères (le taux de réussite des greffes est toujours plus faible) et que, très rapidement, ce matériel a été distribué dans plusieurs pays. Il est actuellement présent dans dix-sept pays producteurs (Lachenaud *et al.*, 2007). En 2004-2005, une parcelle sous ombrière artificielle, regroupant l'ensemble des clones intéressants et décrits (« core collection » d'environ 190 clones spontanés), a été installée à Paracou-Combi (parcelle S5).

#### 4-2-3 Caractérisation et évaluation

Les principales activités de recherche menées en Guyane ont concerné la caractérisation et l'évaluation du matériel génétique spontané (aspects morphologiques et biochimiques, comportement agronomique) dans le but de fournir des indications pratiques aux chercheurs pour l'utilisation des cacaoyers guyanais.

Une partie des travaux de caractérisation (et la prospection de 1995) furent financés par le FIC, pour un projet qui associait le Cirad et le CRU de Trinidad (1994-1996).

Les arbres issus des prospections 1987 et 1990 ont été observés individuellement pendant dix ans pour les descripteurs agronomiques suivants, qui sont tous des critères de sélection :

- la croissance juvénile (accroissement de section au collet entre un et deux ans au champ) ;
- la vigueur adulte (section du tronc à dix ans à 50 cm du sol) ;
- la précocité de production (= production cumulée à cinq ans) ;
- la production (cumulée à dix ans) ;
- le rapport production / vigueur à dix ans (= "Cropping Efficiency") ;
- le pourcentage de cabosses pourries (cumul à dix ans) ;
- le poids moyen d'une cabosse.

Pour le même matériel végétal, certains descripteurs de fleurs, de fruits et de fèves (qu'ils soient ou non des critères de sélection, qualitatifs ou quantitatifs) ont été étudiés sur des individus pré-sélectionnés (pour leur croissance juvénile et leur précocité) ou sur les clones des pieds-mères sauvages. Les effectifs utilisés, par clone ou arbre étudié, sont généralement ceux préconisés par l'IPGRI<sup>2</sup> (Anon. 1981). La compatibilité et la durée de maturation ont également été étudiées.

---

<sup>2</sup> International Plant Genetic Resources Institute (Rome), maintenant Bioversity

L'évaluation comprend également l'étude de la valeur en croisement du matériel spontané de Guyane, pour divers critères de sélection agronomiques, comme la vigueur, la productivité, le rapport production / vigueur, les résistances. Un essai factoriel incomplet 5 x 8 fut planté à Paracou-Combi en 1997-98 (7 clones guyanais spontanés et 6 clones d'autres groupes, Forasteros et Trinitarios). Suite à divers problèmes logistiques, cet essai fut arrêté en 2001 et seules les données de vigueur juvénile sont disponibles (Lachenaud *et al.*, 2007). Les résultats acquis pour ce critère nécessitent une confirmation pour d'autres critères, mais, tout comme les résultats obtenus en Côte d'Ivoire, ils semblent indiquer les mérites considérables des clones GU en hybridation.

Les résultats de toutes ces études menées en Guyane ont été publiés : Lachenaud *et al.*, 1999, 2000, 2006 ; Lachenaud et Oliver, 2001, 2005a, 2005b ; Lachenaud, 2007 (voir par ex., Tab. 5). Dans cette rubrique, on peut également citer les études concernant les qualités technologiques et sensorielles des chocolats élaborés à partir des cacaos guyanais, dont une synthèse a été publiée par Assemat *et al.*, (2005). Les origines (populations, descendance, clones) à préférer, suivant leurs performances par rapport aux divers buts des sélectionneurs, ont pu être identifiées (Lachenaud *et al.*, 2007). Il reste toutefois de nombreuses données à analyser et publier, en particulier concernant le matériel de la dernière prospection, en 1995.

En plus de la publication des résultats, les données sont, depuis le début, transmises régulièrement à l'Université de Reading (UK) qui les intègre dans la banque de données ICGD (International Cocoa Germplasm Database).

En dehors de la Guyane, c'est surtout le comportement vis-à-vis des bioagresseurs qui a été étudié, sur des effectifs de clones variables, souvent faibles cependant. Une revue des résultats acquis a été présentée par Lachenaud *et al.*, (2007). Paulin *et al.*, (2006, 2008) ont publié les résultats des tests-feuilles menés au Cirad à Montpellier vis-à-vis de la résistance aux *P. palmivora* et *P. megakarya*, agents de la maladie de la pourriture brune (ex. Tab. 7). Au Brésil, J.L. Pires a confirmé l'intérêt de certains génotypes guyanais, et du groupe dans son ensemble, comme nouvelle source de résistance à la maladie du balai-de-sorcière, causée par *Moniliophthora perniciosa* (Pires, 2003). En Côte d'Ivoire, N'guessan *et al.* ont montré que le comportement des clones guyanais vis-à-vis des punaises mirides est globalement excellent et supérieur ou égal à celui des meilleures origines (N'guessan *et al.*, 2007).

#### 4-2-4 Diversité génétique et structuration

Les descripteurs cités précédemment sont sensibles à l'action du milieu, même si certains, présentant une forte héritabilité (au sens large), ont une très bonne valeur discriminante, comme les descripteurs floraux (Lachenaud *et al.*, 1999). Les marqueurs biochimiques et moléculaires ne présentent pas cet inconvénient, car ils permettent la caractérisation du génotype en certains points (locus). L'électrophorèse d'iso-enzymes sur gel d'amidon a été la méthode retenue en 1994, pour sa fiabilité et sa simplicité. Six systèmes enzymatiques furent utilisés dans les études menées à Kourou de 1995 à 1998 (PGM, PGI, MDH, PAC, ADH et IDH). Certains de ces systèmes impliquant plusieurs gènes, le nombre total de locus considéré fut de neuf. 138 clones représentant dix-sept populations furent ainsi étudiés (Lachenaud *et al.*, 2004).

L'ensemble des données de caractérisation (descripteurs biochimiques, floraux, agronomiques) a donc permis d'étudier la variabilité rencontrée dans le matériel spontané de Guyane, ainsi que la structuration de cette variabilité. Dès 2004, les diverses populations

spontanées de cacaoyers ont pu être regroupées en deux ensembles : un ensemble « amont » et un « aval » (Tab. 5).

Plus récemment, une étude quasi exhaustive (189 clones représentant 18 demes) a été menée en collaboration avec l'USDA, à l'aide de 15 marqueurs micro-satellites « standardisés » pour le cacaoyer, et a donné des résultats importants sur la diversité génétique des cacaoyers sauvages de Guyane et la structuration de cette diversité (Lachenaud et Zhang, 2008). Ils confirment, en ce qui concerne les paramètres de génétique des populations ( $H_e$ ,  $H_o$ ,  $F_{st}$ ), les résultats obtenus à l'aide de marqueurs iso-enzymatiques (Lachenaud *et al.*, 2004). La structuration en populations confirme également les résultats précédents et montre que les « populations » identifiées en forêt primaire par les collecteurs sont bien une réalité. Une importante structuration existe dans la métapopulation de cacaoyers spontanés guyanais (cf Tab. 6), avec un  $F_{st}$  de 0,20, qui pourrait s'expliquer par les caractéristiques biologiques du cacaoyer et les événements climatiques ayant affecté les forêts guyanaises au Quaternaire.

#### 4-2-5 Utilisation dans les programmes d'amélioration

Les essais de géniteurs guyanais spontanés, encore peu nombreux et généralement récents, n'ont produit que peu de résultats publiés. En Côte d'Ivoire, les résultats acquis semblent montrer une très bonne transmission aux descendants de la résistance au *P. palmivora* des géniteurs spontanés guyanais : ainsi le clone GU 123-B, classé très résistant au test-feuille, voit ses descendants (avec les géniteurs P7, IFC 1 et IFC 11) également classés très résistants (Anon. 2004). Dans ce même pays, une descendance avec GU 133-1 (classé résistant) a été pré-sélectionnée pour essais multilocaux avant vulgarisation, pour sa productivité élevée, son excellent "Cropping efficiency" et son très faible % de pertes par pourritures (cf Tab. 4, page 27 ; Lachenaud *et al.*, 2001).

J'ai pu planter dans ce pays, en 2001, un essai factoriel impliquant trois clones guyanais GU (originaires de la rivière Camopi), demi-frères de clones déjà connus comme résistants au *P. palmivora* au test-feuille. Les résultats disponibles (Anon. 2006 ; Tahi, comm. pers., 2008) montrent des performances excellentes pour le rendement et la résistance au champ à la pourriture brune des familles comportant un géniteur guyanais.

Des clones guyanais GU sont également présents dans quelques croisements à Trinidad (3 clones), au Ghana (14 clones), en Amérique (un clone dans un essai multilocal implanté dans 5 pays). Suite à la publication d'une revue sur les performances du germplasma GU (Lachenaud *et al.*, 2007), de nombreux clones ont pu être conseillés comme géniteurs, suivant les critères de sélection choisis. Trois clones « élites », c'est-à-dire excellents ou très bons pour l'ensemble des critères, ont même été identifiés et livrés aux partenaires en RCI et au Costa Rica. Ils ont également été proposés, parmi d'autres, au Cameroun et au Nigeria.

**Tableau 5:** Average values observed for four bean traits, in the main five populations and the two groups, with ABW = average bean weight, L = average bean length, W = average bean width, and %FB = percentage of flat beans (in Lachenaud and Oliver, 2005 a). Only means followed by a different letter are significantly different ( $P < 0.05$ )

Germplasm	Number of trees	ABW (g)	L (mm)	W (mm)	%FB
Cam 1	21	3.05	22.60	11.97	4.44 c
Cam 3	9	2.91	22.92	12.34	5.81 bc
Cam 7	14	2.99	22.92	12.21	3.40 c
Cam 9	32	2.92	22.40	11.50	8.58 ab
Cam 13	9	2.92	22.82	12.03	11.50 a
"Upstream group" (1)	39	3.05	22.75	12.09 a	4.33 b
"Downstream group" (2)	54	2.92	22.56	11.74 b	8.79 a

**Tableau 6.** Inter-population variation measured by Nei's distances (1972, under the diagonal) and pairwise  $F_{ST}$  (above the diagonal), with Cam = Camopi and Elp = Euleupousing

Population	Cam 1	Cam 3	Cam 7	Cam 9	Cam 12	Cam 13	Elp	"Primitive"
Cam 1	-	0.136	0.037	0.081	0.148	0.078	0.050	-
Cam 3	0.138	-	0.150	0.040	0.050	0.050	0.147	-
Cam 7	0.036	0.201	-	0.098	0.168	0.074	0.060	-
Cam 9	0.090	0.032	0.141	-	0.053	0.026	0.109	-
Cam 12	0.164	0.042	0.237	0.046	-	0.087	0.166	-
Cam 13	0.085	0.035	0.101	0.029	0.078	-	0.099	-
Elp	0.056	0.187	0.076	0.145	0.224	0.122	-	-
"Primitive"	0.811	0.867	0.718	0.776	0.805	0.772	0.545	-
"Parinari"	1.202	1.202	1.005	1.054	1.126	1.092	0.931	0.511

Populations differentiations ( $F_{ST}$ ) are all significant, except for Cam 1 - Cam 7 and Cam 9 - Cam 13. « Primitive » and « Parinari » are control groups (in Lachenaud and Zhang, 2008)



**Tableau 7:** General classification of the Guianan clones, with adjusted mean values (in bold, control clones) :  $0 < HR < 1 < R < 2 < MR < 2.5 < S < 3.5 < HS < 5$ . (in Paulin *et al.*, 2008)

Clone	Adjusted mean	Degree of resistance
GU 123-V	0.16	HR
GU 226-V	0.59	HR
KER 1-L	0.60	HR
GU 195-V	0.67	HR
GU 125-C	0.71	HR
B7-B6	0.84	HR
ELP 20-A	0.89	HR
GU 269-V	1.03	R
ELP 16-A	1.06	R
GU 255-V	1.11	R
GU 241-V	1.13	R
ELP 22-A	1.18	R
B7-B5	1.19	R
<b>IMC47</b>	1.27	R
GU 301-A	1.34	R
GU 134-B	1.34	R
GU 263-V	1.35	R
GU 254-A	1.37	R
GU 285-B	1.43	R
B7-B3	1.43	R
GU 143-B	1.47	R
GU-353-V	1.50	R
GU 183-G	1.53	R
GU 134-C	1.55	R
GU 143-A	1.58	R
GU 156-B	1.60	R
GU 139-A	1.65	R
GU 285-A	1.76	R
GU 175-V	1.79	R
GU 268-A	1.80	R
GU 303-B	1.80	R
GU 230-B	1.88	R
GU 307-V	1.91	R
GU 147-P	1.94	R
GU 230-C	1.96	R
GU 140-S	1.99	R
GU 237-V	2.00	R
GU 257-E	2.08	MR
B7-A2	2.18	MR
GU 213-V	2.21	MR
GU 233-P	2.28	MR
GU 185-G	2.37	MR
KER 11.1-A	2.54	S
KER 6	2.57	S
PINA	2.62	S
GU 134-A	2.63	S
YAL 3	2.64	S
GU 129-B	2.66	S
GU 329-V	2.67	S
ELP 28-A	2.71	S
ELP 2-B	2.81	S
ELP 37-A	3.04	S
KER 3	3.08	S
<b>OC77</b>	3.10	S
KER 8-R	3.16	S
<b>MXC67</b>	3.16	S
GU 312-V	3.17	S
GU 138-A	3.26	S
GF23	3.28	S
<b>ICS1</b>	3.36	S
GU 265-V	3.40	S
<b>EQX3360</b>	3.56	HS
ELP 40-B	3.61	HS
KER 9	3.66	HS
OYA 2-B	3.73	HS

### 4-3 Conclusions

Les travaux présentés dans cette courte synthèse s'inscrivent dans une démarche d'amélioration des variétés cultivées de cacaoyer, dans une optique de développement (mandat du Cirad). Depuis mon premier contact avec la recherche cacaoyère (en novembre 1977), j'ai pu m'impliquer dans presque toutes les disciplines et domaines concernant la plante et les peuplements cultivés, depuis la collecte des ressources génétiques sauvages en forêt primaire jusqu'à la télédétection des vergers, en passant par la caractérisation et l'évaluation des ressources génétiques (phénotypage), l'amélioration des variétés, la sélection, la pollinisation, la physiologie de la production et les composantes du rendement, la phytotechnie, etc...

Le cœur du travail a cependant toujours été l'utilisation des ressources génétiques pour l'amélioration des variétés cultivées, avec, depuis quelques années, les résistances aux bioagresseurs comme critères de sélection prépondérants. Les travaux ont toujours été réalisés dans le cadre de collaborations (en expatriation ou non) avec les pays producteurs dont principalement le premier d'entre eux, la Côte d'Ivoire, et dans ce cas avec une composante « formation » primordiale, mais aussi avec des institutions de pays du nord, comme l'USDA par exemple. Les résultats pratiques les plus marquants sont la création de très bonnes variétés en Côte d'Ivoire (productives, résistantes, sélectionnées sur leur « cropping efficiency », produisant un cacao de bonne qualité) et la sélection de clones spontanés guyanais intéressants pour de nombreux critères, en particulier les résistances aux maladies (cf Tab. 7, pour la résistance au *P. megakarya*).

### 4-4 Références citées

Anon., 1981. Genetic Resources of Cocoa. Report "IBPGR Working Group on Genetic Resources of cocoa", IBPGR Secretariat, Roma, 25 p.

Anon., 2004. CFC/ICCO/IPGRI Project on: Cocoa Germplasm Utilization and Conservation: a Global Approach. Final Individual Reports April 1998-September 2003, Volumes 1 & 2.

Anon., 2006. CFC/ICCO/IPGRI Project on: Cocoa Productivity and Quality Improvement, a Participatory Approach. Appendix to the General Progress Report Year 2. Individual Institute Reports. 1, June 2005-31 May 2006.

Assemat, S., Lachenaud, Ph., Ribeyre, F., Davrieux, F., Pradon, J.-L., Cros, E., 2005. Bean quality traits and sensory evaluation of wild Guianan cocoa populations (*Theobroma cacao* L.). *Genetic Resources and Crop Evolution* 52, 911-917.

Bartley, B. G. D., 2005. The Genetic Diversity of Cacao and its Utilization. CABI Publishing (UK and USA), 341 p.

Besse, J. 1977. La sélection générative du cacaoyer en Côte d'Ivoire : bilan et orientation des recherches. 5ème Conférence Internationale sur la Recherche Cacaoyère, Ibadan (Nigéria), 95-103.

Clément D., 1986. Cacaoyers de Guyane. Prospections. *Café Cacao Thé* (Paris), 30 (1), 11-36.

Clément, D., A. Eskes, O. Sounigo et J. N'goran. 1994. Amélioration génétique du cacaoyer en Côte d'Ivoire. Présentation d'un nouveau schéma de sélection. 11ème Conférence Internationale sur la Recherche Cacaoyère, Yamoussoukro (Côte d'Ivoire), 451-455.

Clément, D., J. N'goran, D. Paulin, Ph. Lachenaud, O. Sounigo, A. B. Eskes. 1999. Amélioration génétique du cacaoyer en Côte d'Ivoire. Nouvelle sortie variétale. 12ème Conférence Internationale sur la Recherche Cacaoyère, Salvador, Bahia (Brésil) 1996, 337-344.

Cuatrecasas J., 1964. Cacao and its allies. A taxonomic revision of the genus *Theobroma*. Contributions from the United States National Herbarium, 35 (6). Smithsonian Institution. Washington, D. C.

Eskes, A. B. 1999. CFC/ICCO/IPGRI project on Cocoa Germplasm Utilization and conservation - a global approach. Appendix to general progress report of year 1, Individual Institutes Reports, IPGRI, June 1999.

Lachenaud, Ph. 1984. Une méthode d'évaluation de la production de fèves fraîches applicable aux essais entièrement "randomisés". *Café, Cacao, Thé* (Paris), 28 (2), 83-87.

Lachenaud, Ph. 1991. Effet de quelques variables saisonnières sur la relation entre poids de cabosse et poids de fèves fraîches chez le cacaoyer. Bilan d'observations en Côte d'Ivoire. *Café, Cacao, Thé* (Paris), 35 (2), 113-120.

Lachenaud, Ph. 1991. Facteurs de la fructification chez le cacaoyer (*Theobroma cacao* L.). Influence sur le nombre de graines par fruit. Thèse, Institut National Agronomique Paris-Grignon, 188 p.

Lachenaud, Ph. 2007. Fruit trait variability in wild cocoa trees (*Theobroma cacao* L.) from the Camopi and Tanpok basins in French Guiana. *Acta Botanica Gallica* 154 (1), 117-128.

Lachenaud, Ph., Sallée, B., 1993. Les cacaoyers spontanés de Guyane. Localisation, écologie, morphologie. *Café, Cacao, Thé* (Paris) 37, 101-114.

Lachenaud, Ph., D. Clément, B. Sallée, Ph. Bastide. 1994. Le comportement en Guyane de cacaoyers sélectionnés en Côte d'Ivoire. *Café, Cacao, Thé* (Paris), 38 (2), 91-101.

Lachenaud, Ph., Mooleedhar, V., Couturier, C., 1997. Wild cocoa trees in French Guiana. New surveys. *Plantations Recherche Développement* 4, 25-32.

Lachenaud, Ph., Bonnot, F., Oliver, G., 1999. Use of floral descriptors to study variability in wild cocoa trees (*Theobroma cacao* L.) in French Guiana. *Genetic Resources and Crop Evolution* 46, 491-501.

Lachenaud, Ph., Oliver, G., Letourmy, Ph., 2000. Agronomic assessment of wild cocoa trees (*Theobroma cacao* L.) from the Camopi and Tanpok basins (French Guiana). *PGR Newsletter* 124, 1-6.

Lachenaud, Ph., Oliver, G., 2001. Variability in various agronomic traits of wild cocoa trees (*Theobroma cacao* L.) from the Camopi and Tanpok basins (French Guiana). *PGR Newsletter* 128, 35-40.

- Lachenaud, Ph., A. Eskes, J. A. K. N'Goran, D. Clément, I. Kebe, M. Tahi et C. Cilas. 2001. Premier cycle de sélection récurrente en Côte d'Ivoire et choix des géniteurs du second cycle.  
in : Actes de la 13ème Conférence Internationale sur la recherche cacaoyère, Kota Kinabalu (Sabah, Malaysia), 9-14 octobre 2000. Cocoa producer's alliance, Lagos (NGA), 11-22.
- Lachenaud, Ph., Sounigo, O., Oliver, G., 2004. Genetic structure of Guianan wild cocoa (*Theobroma cacao* L.) described using isozyme electrophoresis. *PGR Newsletter* 139, 24-30.
- Lachenaud Ph, Sounigo O, Sallée B. 2005. Les cacaoyers spontanés de Guyane française : état des recherches. *Acta Botanica Gallica* 152 (3): 325 – 346
- Lachenaud, Ph., Oliver, G., 2005a. Variability and selection for morphological bean traits in wild cocoa trees (*Theobroma cacao* L.) from French Guiana. *Genetic Resources and Crop Evolution* 52, 225-231.
- Lachenaud, Ph., Oliver, G., 2005b. Compatibility and Duration of Pod Maturation in Guianan Wild Cocoa Trees – Preliminary results. *Ingenic Newsletter* 10, 20-22.
- Lachenaud, Ph., Oliver, G., Bastide, Ph., Paulin, D., 2006. Le remplissage des cabosses des cacaoyers spontanés de Guyane (*Theobroma cacao* L.). *Acta Botanica Gallica* 153, 105-114.
- Lachenaud Ph., Paulin D., Ducamp M., Thevenin J.-M., 2007. Twenty years of agronomic evaluation of wild cocoa trees (*Theobroma cacao* L.) from French Guiana. *Sciencia Horticulturae* 113: 313-321.
- Lachenaud, Ph., D. Zhang. 2008. Genetic diversity and population structure in wild stands of cacao trees (*Theobroma cacao* L.) in French Guiana. *Annals of Forest Science* 65: 310-316.
- Lanaud, 1987. Nouvelles données sur la biologie du cacaoyer (*Theobroma cacao* L.). Thèse de doctorat d'état, Université de Paris-sud, 106 p (+ annexes).
- Lanaud, C., Ph. Lachenaud, O. Sounigo. 1988. Comportement en croisement des haploïdes doublés de cacaoyers (*Theobroma cacao*). *Canadian Journal of Botany*, 66, 1986-1992.
- Lanaud C., J.C. Motamayor & O. Sounigo, 1999. Le cacaoyer. In: *Diversité génétique des plantes tropicales cultivées*. P. Hamon et al., Eds. Collection Repères, Cirad, 387 p.
- Lotodé, R., Ph. Lachenaud. 1988. Méthodologie destinée aux essais de sélection du cacaoyer. *Café, Cacao, Thé* (Paris), 32 (4), 275-292.
- Motamayor J. C., A.-M. Risterucci, P. A. Lopez, C.F. Ortiz, A. Moreno & C. Lanaud, 2002. Cacao domestication I : the origin of the cacao cultivated by the Mayas. *Heredity* 89, 380-386.
- Motamayor, J.C., Lachenaud, Ph., Wallace Da Silva E Mota, J., Llor, G., Kuhn, D., Brown, J. & Schnell, R. 2008. Geographic and genetic population differentiation of the Amazonian chocolate tree. *PLoS One*, October 2008, Vol. 3, Issue 10, e3311 (8 p.)
- N'guessan, K.F., Eskes, A.B., Lachenaud, Ph., 2007. Mirid resistance studies in Côte d'Ivoire: field observations on recent and cumulative damage. In: Eskes, A.B., Efron, Y. (Eds.), *Global Approaches to Cocoa Germplasm Utilization and Conservation*, CFC Technical Paper N° 50, pp. 170-181.

Paulin, D., G. Mossu, Ph. Lachenaud, C. Cilas. 1993. La sélection du cacaoyer en Côte d'Ivoire. Analyse du comportement de soixante-deux hybrides dans quatre localités. *Café, Cacao, Thé* (Paris), 37 (1), 3-19.

Paulin, D., A. B. Eskes. 1995. Le cacaoyer : stratégies de sélection. *Plantations Recherche Développement*, 2 (6), 5-13.

Paulin, D., Ducamp, M., Lachenaud, Ph., 2006. Evaluation des cacaoyers spontanés de Guyane française pour leur résistance à *Phytophthora megakarya*. Proceedings of the 15<sup>th</sup> International Conference on Cocoa Research, San José (Costa Rica), 9-14/10/2006 (sous presse).

Paulin, D., M. Ducamp, P. Lachenaud. 2008. New sources of resistance to *Phytophthora megakarya* identified in wild cocoa tree populations of French Guiana. *Crop Protection* 27: 1143-1147.

Pires, J.L., 2003. Avaliação quantitativo e molecular de germoplasma para o melhoramento do cacauero com ênfase na produtividade dos frutos e resistência. Ph D Thesis, Universidad federal de Viçosa, MG, Brazil (242 p.).

Pokou N. D., N'goran J. A.K., Lachenaud Ph., Eskes A.B., Kolesnikova-Allen M., Clement D., Sounigo O., Sangare A. 2008. Recurrent selection of cocoa populations (*Theobroma cacao* L.) in Côte-d'Ivoire: comparative genetic diversity between the first and second cycles. *Plant Breeding* (sous presse)

Sounigo, O., Coulibaly, N., Brun L. A., N'Goran J.A.K., Cilas C., Eskes A.B. 1999. Etude de la sensibilité aux mirides (*Distantiella theobromae* et *Sahlbergella singularis*) dans des essais de descendances de cacaoyers de Côte d'Ivoire. Proceedings 12<sup>ème</sup> Conférence Internationale sur la recherche Cacaoyère, 1996, Salvador de Bahia (Brésil), 331-336.

Sounigo, O., Ph. Lachenaud, Ph. Bastide, C. Cilas, J. N'Goran, C. Lanaud. 2003. Assessment of the value of doubled haploids as progenitors in cocoa (*Theobroma cacao* L.) breeding. *Journal of Applied Genetics*, 44 (3), 339-353.

Tahi, M., I. Kébé, A. B. Eskes, S. Ouattara, A. Sangaré and F. Mondeil. 2000. Rapid screening of cacao genotypes for field resistance to *Phytophthora palmivora* using leaves, twigs and roots. *European Journal of Plant Pathology*, 106, 87-94

## V Le projet de recherches

### Diversité des cacaoyers spontanés de Guyane. Utilisation dans la lutte contre les bioagresseurs.

#### 5.1 – Objectifs

Le projet a pour objectif principal d'enrichir les connaissances sur la diversité d'une plante pérenne tropicale de grande importance économique, le cacaoyer (*Theobroma cacao* L.) dans le but de mieux lutter contre les maladies. Il vise à obtenir des clones de cacaoyers spontanés de Guyane utilisables dans la création de variétés durablement résistantes. Le matériel génétique spontané guyanais présent dans la collection du Cirad à Sinnamary en Guyane sera évalué exhaustivement pour sa résistance à trois des principales maladies du cacaoyer (les pourritures à *Phytophthora* spp., le balai-de-sorcière dû à *Moniliophthora perniciosa* et le "mal de machete", dû à *Ceratocystis fimbriata* <sup>3</sup>), domaine où des résultats prometteurs ont déjà été acquis. L'ensemble des clones sera également caractérisé pour la résistance du cortex des cabosses à la pénétration, facteur de la résistance au « Cocoa Pod Borer » (*Conopomorpha cramerella*), important ravageur des cabosses du sud - est asiatique qui étend actuellement son aire de dispersion.

A l'aide des résultats obtenus, et de ceux déjà acquis en caractérisation morphologique et en évaluation agronomique, des clones pourront être proposés aux sélectionneurs et chercheurs en amélioration du cacaoyer, afin qu'ils puissent les intégrer dans leurs programmes d'amélioration nationaux, pour lutter contre les bioagresseurs présents chez eux. Ils pourront aussi intégrer dans leurs futures variétés des gènes de résistance pour une « amélioration préventive » (cas de la résistance aux maladies américaines du cacaoyer, balai-de-sorcière et moniliose, à intégrer dans les variétés cultivées en Afrique ou en Asie, par exemple).

D'autre part, l'intérêt des cacaoyers spontanés de Guyane ne se limite pas à être des sources de résistance génétique à divers bioagresseurs, utilisables en lutte génétique. Ils pourraient également héberger des communautés de champignons endophytes, comme c'est le cas dans d'autres zones d'origine, utiles en lutte biologique. Il s'agit là d'un domaine nouveau, totalement inconnu en ce qui concerne ces cacaoyers. Ces associations d'endophytes, perdues ( ? ) avec la domestication, pourraient, après restauration en culture, participer à la protection du cacaoyer vis-à-vis des maladies citées.

#### 5.2 Le projet et les résultats attendus

##### 5.2.1 La problématique scientifique

Les cacaoyers spontanés du sud-est de la Guyane française ont fait l'objet de plusieurs expéditions de prospections et de collecte entre 1985 et 1995 (Lachenaud & Sallée, 1993 ; Lachenaud *et al.*, 1997). Les nombreuses études menées sur ce nouveau matériel génétique (par exemple Sounigo *et al.*, 1996, 1999, 2001 ; Lachenaud *et al.*, 2000, 2001, 2004, 2008) en ont montré la grande originalité. La caractérisation et l'évaluation de ce matériel ont pour but de fournir des indications pratiques aux sélectionneurs pour son utilisation en amélioration génétique (Lachenaud *et al.*, 2007) ; ainsi la variabilité (diversité) pour les critères agronomiques (vigueur, précocité, production, "cropping-efficiency", taille des cabosses, résistance au champ vis-à-vis des pourritures ; Lachenaud *et al.* 2000, 2001), la

---

<sup>3</sup> En synonymie avec *Ceratocystis cacaofunesta* (Engelbrecht & Harrington, 2005)

granulométrie et les caractères morphologiques des fèves (Lachenaud & Oliver, 2005) et des fruits (Lachenaud, 2007), les caractéristiques organoleptiques (Assemat *et al.*, 2005) des importantes populations des bassins des rivières Camopi et Tanpok ont été publiées. Il en est de même de certains résultats sur la structuration génétique du groupe dans son ensemble et des paramètres de génétique des populations (Lachenaud *et al.*, 1999, 2004 ; Lachenaud et Zhang, 2008). Parallèlement, l'intérêt potentiel de ce matériel se précise dans la lutte contre les pourritures brunes, avec la mise en évidence de clones très résistants (Paulin *et al.*, 2005, 2006, 2008 ; Lachenaud *et al.*, 2007), dans la lutte contre la maladie du balai-de-sorcière (Pires, 2003 ; Lachenaud *et al.*, 2007) et dans la lutte contre les mirides (N'guessan *et al.*, 2005, 2007). Ces organismes sont responsables de la relative stagnation de la production cacaoyère dans toutes les zones productrices de cacao. Il s'agit donc d'un matériel assez exceptionnel et il est important, d'une part de poursuivre les prospections de matériel sauvage (car il reste en Guyane des zones non prospectées) et, d'autre part, de caractériser et évaluer l'ensemble des clones disponibles pour leur comportement vis-à-vis de certains bioagresseurs.

Les champignons endophytes sont un groupe ancien qui a co-évolué en symbiose avec les plantes supérieures. Il semble que lorsque les plantes sont extraites des forêts de leurs centres d'origine ou de diversification, ces endophytes soient perdus (Taylor *et al.*, 1999; Evans *et al.*, 2003). En effet, des échantillonnages dans des plantations de cacaoyers situées en dehors des zones d'origine (à la fois en Afrique et Amérique) révèlent des groupements d'endophytes très pauvres, ce qui pourrait expliquer les nombreux problèmes sanitaires rencontrés. En Equateur et au Panamá, les endophytes trouvés en forêt sur des cacaoyers sauvages et naturalisés (Arnold & Herre, 2003 ; Arnold *et al.*, 2003) ont montré qu'ils peuvent conférer aux cacaoyers cultivés une résistance vis-à-vis des pathogènes (Clay, 2004). Le "centre d'origine" du cacaoyer se situe en zone amazonienne et, par exemple, des données préliminaires de haute-Amazone montrent que les groupements d'endophytes du cacaoyer y comprennent des espèces de groupes non connus comme habituellement endophytes. Les hypothèses à tester dans le projet seront donc que les cacaoyers des populations naturelles de Guyane hébergent des groupements d'endophytes différents de ceux d'autres zones et que ces endophytes pourraient être exploités dans une stratégie de protection durable des cultures.

Cette partie du travail, à effectuer en coopération avec le laboratoire "Systematic Botany and Mycology" de l'USDA (Beltsville, Maryland, USA), pourrait constituer un autre projet (de thèse), à part entière, si les premiers résultats se révèlent encourageants.

### 5.2.2 L'état de l'art

Dans le cadre du projet CFC/ICCO/IPGRI (1998-2003) "Cocoa Germplasm Utilization and Conservation : a global approach", des clones de cacaoyers spontanés de Guyane, essentiellement issus de la prospection 1987 (clones GU, en nombre limité) ont été testés vis-à-vis de plusieurs espèces de *Phytophthora*, par le test précoce sur disques de feuilles. Les résultats acquis au Cirad à Montpellier, au CNRA (RCI), au CRIG (Ghana) montrent que des clones très résistants, souvent supérieurs aux références, existent dans le matériel guyanais (IPGRI, 2001 ; Paulin *et al.* 2005, 2006, 2008 ; Lachenaud *et al.*, 2007). Au Brésil, J. Pires (Cepec) a confirmé l'intérêt du groupe dans son ensemble comme nouvelle source de résistance au balai-de-sorcière (Pires, 2003). Toutefois, la plus grande partie du matériel génétique guyanais n'a pas été testée, et en particulier les populations prospectées en 1990 et 1995 (dont certaines se révèlent les plus variées, Sounigo *et al.* 2001; Lachenaud *et al.* 2004). De nouvelles et précieuses sources de résistance aux maladies citées seront donc probablement découvertes chez ces cacaoyers. Vis-à-vis de la résistance aux insectes, les résultats obtenus en RCI contre les mirides (N'guessan *et al.*, 2007) sont très encourageants. La forte proportion de cortex des cabosses des clones guyanais (Lachenaud, 2007) pourrait constituer un avantage dans la lutte contre le « Pod Borer ».

### 5.2.3 Le contexte international

La collection guyanaise du Cirad, qui est la collection de référence pour le matériel spontané de Guyane, est une collection importante (plus de 550 "accessions" au total) où sont représentés environ 200 pieds-mères issus de vingt populations sauvages originaires de cinq bassins. Seule une partie limitée du matériel génétique sauvage guyanais a été transférée, soit au Cirad à Montpellier, soit à l'Université de Reading (station de quarantaine), soit (par l'intermédiaire des quarantaines) dans une quinzaine de pays producteurs de cacao (dont Brésil, Côte d'Ivoire, Cameroun, Equateur, etc...). Ce matériel a essentiellement été étudié par le Cirad en Guyane (caractérisation morpho-agronomique, structuration de la variabilité). Les tests de résistance aux bioagresseurs sont relativement récents, et ont toujours été réalisés sur des effectifs limités. Une « core collection » d'environ 200 clones, établie en Guyane en 2004-05, sous ombrière artificielle, présente les conditions idéales d'homogénéité pour tester localement (à l'aide du test-feuille) l'ensemble des géotypes contre les pourritures brunes causées par *P. palmivora* et *P. capsici*, les deux espèces présentes en Guyane, ainsi que pour tester (sur branchettes) la résistance au « Mal de machete ».

### 5.2.4 Les travaux envisagés

Concernant la caractérisation et l'évaluation des cacaoyers de Guyane, les activités suivantes seront menées dans le cadre du projet :

- Identification (sur la base de critères morphologiques) de souches locales de *Phytophthora* pathogènes du cacaoyer (*P. palmivora* et *P. capsici*). Isolement et mise en culture des souches pour leur caractérisation moléculaire. Stratégie identique pour *M. perniciosa* et *C. fimbriata*. (à réaliser en Guyane par un étudiant de niveau M1 de l'Université Antilles-Guyane).

- Evaluation (au laboratoire) d'environ 190 géotypes guyanais pour leur résistance aux *Phytophthora*, sur disques de feuilles (et sur cabosses détachées pour un échantillon de clones résistants). Tests en pépinière sur les mêmes géotypes pour la résistance à *M. perniciosa*. (par dépôt d'une goutte gélosée d'inoculum). Test sur baguettes des mêmes géotypes pour l'évaluation de la résistance à *C. fimbriata*. Test au pénétromètre pour évaluer la dureté des cabosses (à réaliser en Guyane).

- Transfert du matériel végétal résistant et/ou intéressant pour d'autres critères au Cirad à Montpellier pour l'évaluation de son niveau de résistance vis-à-vis de *P. megakarya* (espèce très dangereuse mais non présente en Amérique), et également de souches plus agressives de *M. perniciosa* originaires d'autres pays d'Amérique, voire de souches de *Lasiodiplodia* sp. (à réaliser à Montpellier, en partie par un étudiant M1).



### 5.2.5 Les protocoles expérimentaux

Tous les protocoles devront faire l'objet d'une adaptation locale ; voici, dans l'état actuel des connaissances, ce que l'on peut proposer :

#### A) Evaluation de la résistance aux *Phytophthora*

##### *- Clones de cacaoyers à tester*

L'étude concernera la parcelle S5 de la station de Combi, installée sous ombrière artificielle. 191 objets seront testés, dont 186 clones de cacaoyers spontanés guyanais. Les autres origines sont représentées par deux témoins de résistance (SCA 6, répété deux fois, et T 60/887) et GF 24, un clone guyanais "Primitif" (cloné dans les variétés anciennement cultivées) déjà inclus dans un essai multilocal CFC/ICCO/IPGRI. Les témoins de sensibilité sont deux clones spontanés guyanais, déjà testés à Montpellier.

- Témoins Résistants : SCA 6 et T 60/887
- Témoins Sensibles : ELP 40-B (répété deux fois) et OYA 2-B

##### *- Matériel fongique : souches de *Phytophthora* spp.*

On utilisera des souches locales (testées pour leur virulence) de *P. palmivora* et de *P. capsici*.

- Culture des souches : la culture des souches se réalise sur milieu gélosé PDA ou V8 en boîtes de Petri ou tubes de verre. La température de stockage doit être comprise entre 20 et 25°C, à l'obscurité.

- Maintien du pouvoir pathogène : l'alternance, tous les 6 mois, entre culture en boîtes de Petri et en tubes de verre permet généralement de maintenir l'agressivité des souches. Toutefois, si une perte d'agressivité d'une souche était constatée, il faudrait alors inoculer cette souche sur des cabosses mures vertes, puis l'isoler à nouveau sur milieu spécifique, en boîtes ou en tubes, à 25°C et à l'obscurité.

- préparation de l'inoculum : 10 jours avant la date prévue d'inoculation, les souches à inoculer (3 ou 4) sont repiquées sur milieu V8 + betasitostérol gélosé en boîtes de Petri (diamètre : 10 cm). Les boîtes sont placées pendant 3 jours à 25°C et à l'obscurité. Puis elles sont placées à 25°C et à la lumière (photopériode 12h/12h) afin d'obtenir la formation des sporocystes qui seront à l'origine de la production des zoospores.

##### *- Inoculation, incubation, notation des symptômes*

Le jour de l'inoculation, 4 à 5 ml d'eau distillée stérile seront rajoutés dans chaque boîte. Les boîtes seront alors placées dans un réfrigérateur à 4°C pendant 30 mn. Le choc froid favorise la libération de zoospores contenues dans les sporocystes. Les boîtes sont ensuite placées à 20°C pendant 2 heures pour que les zoospores puissent être relâchées dans l'eau. Puis, pour chaque souche, la solution contenant les zoospores est récupérée dans un bécher. Un comptage des zoospores est fait grâce à une cellule de Malassez. La suspension de zoospores sera diluée afin d'obtenir une concentration de 300 000 zoospores / ml.

L'inoculation avec la suspension calibrée doit se faire le plus rapidement possible afin d'éviter que les zoospores ne perdent leur capacité à nager dans l'eau.

L'évaluation de base comprendra 5 à 6 répétitions, séparées par au moins un mois. Il s'agira en fait de séries, car il est probable que certains clones manqueront à chaque série.

Lors de chaque répétition, on utilisera :

- Une feuille par clone (on s'efforcera de prendre tous les clones lors de chaque répétition), avec à chaque fois les témoins de résistance et de sensibilité) au stade 3, c'est-à-dire des feuilles de 50 à 60 jours, cueillies le matin (6h30- 9h00), stockées en glacière et rapportées au laboratoire le plus rapidement possible.
- 20 disques par feuille (10 pour *P. palmivora*, 10 pour *P. capsici*), déposés face inférieure vers le haut. Dans chaque bac, chaque clone sera représenté par deux disques (un pour *P. palmivora* et 1 pour *P. capsici*). Lors de chaque répétition, la disposition des disques sera la même dans chaque bac (d'où la nécessité de faire un plan lors du placement des disques).
- 1 gouttelette de 10 µL par disque, déposée avec une micro-pipette à répétition.
- Durée d'incubation : 7 jours à 25°C et à l'obscurité
- Lecture des symptômes suivant une échelle de 0 à 5 :

0 : absence de symptômes  
 1 : minuscules points nécrotiques (= points de pénétration)  
 2 : points nécrotiques nombreux (points en réseau)  
 3 : taches se rejoignant (taches en réseau)  
 4 : grandes taches uniformes (marbrées)  
 5 : très grandes taches nécrotiques, dépassant parfois les limites de la goutte d'inoculation (taches vraies).

Dans un deuxième temps (ou à Montpellier), quelques répétitions de confirmation seront effectuées avec une concentration élevée (>1.0 million de zoospores /ml) pour les clones classés "Très résistants" après les tests de base.

#### B) Evaluation de la résistance à *Moniliophthora perniciosa*

##### *- Clones de cacaoyers à tester*

Il s'agira des mêmes clones que ceux utilisés lors des tests de résistance à *Phytophthora spp.* Les témoins seront les clones SCA 6 (résistant) et ICS 46 (sensible). 5 greffes seront nécessaires par clone. Les plants devront être âgés de 6 à 8 mois lors des inoculations.

##### *- Matériel fongique : souches de *M. perniciosa**

- En début de petite saison des pluies (novembre), récolter des balais-de-sorcière secs non détériorés sur *Theobroma cacao* et *T. grandiflorum*.
- Désinfecter les balais en les trempant dans une solution d'hypochlorite de sodium (30 minutes, 0,5 % de chlore).
- Pendre les balais dans une unité de production de basidiocarpes et faire alterner des périodes humides et des périodes sèches pour stimuler la production de basidiocarpes.
- Les basidiocarpes seront récoltés délicatement et placés au dessus d'un bécher contenant une solution de glycérol 16 % / MES<sup>4</sup> 0,01M / Tween 0,01% à pH 6,1. La libération des spores a lieu de nuit.
- Le lendemain matin, évaluer la concentration en spores à l'aide d'une cellule de comptage et vérifier le taux de germination sur milieu de culture "eau gélosée" (4 heures après ensemencement). Calibrer la suspension pour une utilisation immédiate ; sinon, la récupérer dans des cryotubes (1,8 – 2 ml) qui seront stockés dans l'azote liquide jusqu'à l'utilisation ultérieure.

##### *- Inoculation, incubation, notation des symptômes*

La méthode d'inoculation proposée est une adaptation de celle développée par Surujdeo-Maharaj *et al.* (2003).

<sup>4</sup> MES = acide 2-morpholinoéthanesulfonique-1-hydrate ; PM = 195,24

- Environ 2 semaines avant la date d'inoculation prévue, tailler les plants afin d'induire la formation de pousses végétatives synchrones.
- Sortir les cryotubes de l'azote liquide et les faire dégeler au bain-marie (30°C) quelques minutes.
- Inoculer chaque bourgeon à l'aide d'une goutte gélosée d'inoculum, au stade "Flush 2", tel que décrit dans Greathouse *et al.* (1971), à une concentration à préciser localement.
- Incuber en atmosphère saturée en humidité (chambre d'incubation) à une température d'environ 24-26°C pendant 48 heures.
- Après la période d'incubation, les plants seront remis en pépinière, sous ombrière.

- La première variable analysée sera la "date d'apparition du premier symptôme" : pour cela, chaque bourgeon sera observé quotidiennement pendant les quatre premières semaines afin de détecter l'émergence des symptômes. Ensuite, pour les plants résistants, les observations seront faites tous les 15 jours.

- La deuxième variable analysée sera le "diamètre maximal du balai à sa base" : pour cela, la base du balai sera mesurée au pied-à-coulisse une fois par semaine jusqu'à obtention du diamètre maximal.

- Le pourcentage de bourgeons présentant des symptômes (gonflement, nécrose, balai) ainsi que le pourcentage de bourgeons malades ayant développé un balai seront aussi évalués.

Chaque plant constitue une répétition. Il n'est prévu qu'une seule série d'inoculation (sur 3 ou 4 jours). Toutefois, une seconde série sera possible, un an après, sur les mêmes plants, après plusieurs tailles importantes.

### C) Evaluation de la résistance à *Ceratocystis fimbriata*

#### *- Clones de cacaoyers à tester*

Il s'agira des mêmes clones que ceux utilisés lors des tests de résistance à *Phytophthora spp.* (2-5-1). Lors des tailles des arbres en parcelle S5, deux branches (ou branchettes) de 30 cm, aoûtées, seront récupérées pour chaque clone à tester. Cinq clones témoins seront utilisés (IMC67, EET 400, résistants ou moyennement résistants, CCN 51, ICS 95, sensibles et PA 120, très sensible ; Delgado et Echandi, 1965 ; Delgado et Suarez, 2005 ; Silva *et al.*, 2004 ; Delgado, 2007).

#### *- Matériel fongique : souches de *C. fimbriata**

- Isolement de souches sur de jeunes plantules ou arbres attaqués par les *Xyleborus*, coléoptères scolytes qui forent des galeries au niveau du collet des plantules et qui introduisent ainsi le pathogène dans la plante (Grosclaude *et al.*, 1988 ; Vigouroux, 1979).

- Les souches seront multipliées et conservées en collection au laboratoire à Kourou, sur milieu gélosé PDA, avec régénération périodique.

- Une première série de tests préliminaires sur les 5 clones témoins permettra de sélectionner la souche la plus agressive, qui sera ensuite utilisée au cours des tests complets d'évaluation.

#### *- Inoculation, incubation, notation des symptômes*

On s'inspirera des travaux de Delgado et Echandi (1965), Dominguez (1971, 1976), Przybyl (1988), Delgado et Suarez (2005) et Delgado (2007) :

- Chaque branchette sera découpée en trois morceaux de 10 cm de long. Au total, 6 morceaux seront inoculés par clone et par date d'inoculation.

- Sur chaque morceau, deux perforations (1 mm de diamètre) seront effectuées à l'aide d'une mini-perceuse : une à 1 cm d'une extrémité (témoin, sans inoculation), l'autre à 3 cm

(inoculation avec du mycélium ou une suspension de spores, suivant les résultats des essais préliminaires).

- Les morceaux seront placés dans des plateaux en conditions humides, à 25°C et avec un éclairage 12h /12h.

- Les notations des dimensions de la nécrose se feront au bout de 3 et 7 jours. On clivera la moitié des branchettes à 3 jours et l'autre à 7.

Par date d'inoculation, 50 clones peuvent être testés (les clones témoins seront inoculés pour toutes les dates). Chaque clone sera inoculé 5 fois (donc  $5 \times 6 = 30$  morceaux de branchettes inoculées par clone). Les clones résistants seront ensuite confirmés au champ, par inoculations artificielles (Silva *et al.*, 2007)

#### D) Caractérisation de la dureté des cortex.

Ces travaux, assez novateurs, s'appliqueront aux mêmes clones que ceux des tests précédents, mais, nécessitant des cabosses, pourront prendre beaucoup plus de temps. Ils seront menés parallèlement à des tests identiques se déroulant en Asie du sud-est (sur des clones différents). Ils reposent sur l'utilisation d'un pénétromètre pour fruits. Le protocole sera à adapter localement, les bases étant les suivantes (Bekele et Butler, 2000 ; Bekele *et al.*, 1997, 2001) :

- Utilisation de cabosses normales (non déformées) présentant les premiers signes de maturité (environ trois semaines avant la pleine maturité), testées le jour même de la récolte ;

- Les mesures seront effectuées en zig-zag, dans la zone équatoriale de la cabosse (sur une bande de 2 cm de large) ;

- 15 mesures seront effectuées pour chaque cabosse : 5 dans chacun des sillons principaux et secondaires, et 5 dans les côtes ;

- 5 cabosses seront utilisées (au moins) par clone ;

- Des témoins seront choisis en fonction des tests réalisés en Asie du sud-est, afin de pouvoir faire le lien avec nos données. Les témoins de dureté du cortex seront les clones ICS 84, ICS 1 et ICS 6 (Bekele *et al.*, 2001).

Les cacaoyers guyanais ayant les cortex particulièrement épais, ils pourraient être intéressants dans la lutte contre le Cocoa Pod Borer.

#### E) Tests à Montpellier (Cirad)

Parmi les clones qui se révéleront "Très résistants" ou "Résistants" au *P. palmivora* et à *M. perniciosus* en Guyane, certains seront expédiés à Montpellier pour y être testés contre *P. megakarya* (et également, contre des souches très agressives de *M. perniciosus*).

Les baguettes des clones retenus seront expédiées à Montpellier dès la conclusion des tests en Guyane. Dix plants de chaque clone seront nécessaires (5 pour les tests *M. perniciosus* et 5 pour les tests-feuille vis-à-vis de *P. megakarya*). Des semences seront donc expédiées de Guyane six mois auparavant, afin de disposer en temps voulu de porte-greffes au bon stade. Les baguettes des clones seront expédiées en deux fois, à 2 mois d'intervalle, en juin et août de l'année 2. Les tests à Montpellier commenceront lorsque les plants greffés auront 6 mois.

#### F) Prélèvements des endophytes

Les souches endophytes des champignons *Trichoderma* sont capables de former des associations endophytes dans les troncs des arbres. Certains de ces endophytes montrent un bon potentiel pour le contrôle des maladies du cacaoyer (Evans *et al.*, 2003 ; Holmes *et al.*, 2004 ; Crozier *et al.*, 2006 ; Samuels *et al.*, 2006 ).

Les cultures de *Trichoderma* et/ou autres seront obtenues à partir de deux sources : les endophytes des troncs et des feuilles de cacao (et d'autres espèces ligneuses), d'une part, et les endophytes issus du sol, d'autre part.

- Collecte d'endophytes des troncs

La diversité des champignons endophytes sera étudiée dans des populations naturelles de cacaoyers. Les prospecteurs rechercheront des cacaoyers sauvages et y échantillonneront les endophytes des feuilles et des troncs. On recherchera en particulier des cacaoyers apparemment résistant à la maladie du balai-de-sorcière.

*Echantillonnage*

Le nombre d'arbres à échantillonner dépendra du nombre de cacaoyers sauvages trouvés et sera donc déterminé au moment de la prospection, l'objectif étant d'échantillonner au moins 6 arbres sur chaque site. Les données GPS de chaque arbre seront enregistrées.

Des échantillons issus de cacaoyers introduits (collection de Paracou-Combi) et de la végétation dominante environnante seront également récoltés, afin de comparer les différentes espèces d'endophytes.

*Isolement*

On suivra le protocole d' Evans *et al* (2003).

Une surface d'écorce d'environ 8 x 6 cm sera prélevée sur chaque tronc à hauteur d'épaule (1,5 m) à l'aide d'une machette désinfectée (alcool + flamme). La partie exposée sera nettoyée avec un scalpel (lame n° 22) et la couche sous-jacente avec une lame n° 10a. Dix tranches triangulaires d'aubier (0,8 x 0,5 cm) seront prélevées et transférées individuellement (avec des pinces stériles) dans des boîtes de Petri (3 cm de diamètre) contenant deux types de milieux : 5 à base de 20 % de PDA (Potato Dextrose Agar) et d'une solution de 10 mg/l de pénicilline-streptomycine, et 5 de MEA (Malt Extract Agar) + chloramphenicol (0,05 g/l). Les boîtes de Petri seront scellées avec du ruban adhésif et conservées en boîtes plastiques. Les fenêtres ouvertes dans les troncs seront obturées immédiatement avec un mastic horticoles pour blessures. Tous les instruments seront désinfectés à l'alcool (+ flamme). Les boîtes de Petri seront envoyées au laboratoire de l'USDA à Beltsville (USA) avec un permis APHIS (Animal and Plant Health Inspection Service).

Les cultures seront examinées pendant une période de 8 semaines, en incubation à 25°C.

Du mycélium et des spores seront isolés dès leur apparition.

- Collecte d'endophytes des feuilles

*Echantillonnage*

Sur les mêmes arbres, on prélèvera des feuilles. De même, des échantillons de feuilles issus de la végétation dominante seront également récoltés, ainsi que des cacaoyers introduits, afin de comparer les différentes espèces d'endophytes.

*Isolement*

Six feuilles seront récoltées sur chaque arbre. Les feuilles seront celles de la dernière poussée foliaire et devront être exemptes de dommages d'insectes ou de traces de maladies. 16 segments de la lamelle moyenne de chaque feuille (2 mm<sup>2</sup> chacun) seront prélevés, à égale distance de la nervure médiane et de la bordure, et stérilisés dans des

tubes Sterlin de 8 ml contenant une solution d'hypochlorite de sodium (à 5 %) pendant 5 mn. Ensuite, les segments seront rincés successivement dans 3 tubes Sterlin contenant de l'eau distillée stérile. Les segments seront ensuite transférés (avec des pinces stérilisées à l'alcool) dans des boîtes de Petri contenant de l'agar (comme dans le cas des échantillons de troncs). L'isolement sera réalisé autant que possible dans les 4 heures suivant la collecte des feuilles, avec une cellule portable.

- Echantillonnage des *Trichoderma* des sols.

Des *Trichoderma* seront isolés du sol autour des arbres sélectionnés, ce qui donnera une indication possible de l'origine des endophytes des troncs. Au maximum 5 échantillons de sols seront collectés dans un rayon de deux mètres autour du tronc de chaque cacaoyer échantillonné. Les *Trichoderma* peuvent être isolés à l'aide d'un milieu spécifique sélectionné (Papavizas & Lumsden 1982). Des échantillons de quelques grammes de sol seront prélevés sous la litière, stockés dans des sacs en papier et isolés jusqu'au retour au laboratoire.

- Essais *in vitro* du potentiel de contrôle microbien

Une évaluation *in vitro* du mycoparasitisme et de la production d'antibiotiques des cultures sera réalisée, si nécessaire. Une des hypothèses à tester est que le genre *Trichoderma* offre le meilleur potentiel de contrôle microbien parce qu'il ne comprend pas de pathogène de la plante et parce qu'il a déjà été montré que des *Trichoderma* sont efficaces dans le contrôle des maladies pour beaucoup de cultures.

Aucun essai *in vitro* n'est fiable à 100%, mais il est essentiel d'avoir une méthode d'estimation du potentiel du contrôle microbien. Pour les essais sur le mycoparasitisme potentiel des espèces de *Moniliophthora*, ce projet utilisera le test de pré-inoculation modifié comme décrit par Evans *et al* (2003).

Une boîte de Petri (9 cm) est inoculée d'un côté avec le pathogène-cible. Le pathogène se développe et remplit la boîte ; une bande d'agar (env 15 x 3 mm) contenant le myco-pathogène proposé est déposée au côté opposé, puis la boîte est mise à incuber (une semaine à 25 °C). Des prélèvements dans l'agar (de 3 mm de diamètre) sont effectués le long d'une ligne allant du point d'inoculation du pathogène à celui de l'antagoniste. Les divers prélèvements sont placés séparément dans des boîtes de Petri contenant du milieu PDA 20% et incubées à 25°C. Les boîtes sont ensuite examinées pour déterminer à quelle distance (du point de prélèvement au point d'inoculation du myco-pathogène) on peut retrouver le myco-pathogène.

Cette procédure est répétée chaque semaine pendant trois semaines. Le fait de retrouver le myco-pathogène testé dans tous les prélèvements indique un mycoparasitisme efficace.

### 5.2.6 Le calendrier prévisionnel

Année.Trimestre	1.1	1.2	1.3	1.4	2.1	2.2	2.3	2.4	3.1	3.2	3.3	3.4
1												
2												
3												
4												
5												
6												
7												
8												

1 : Recherche, identification et caractérisation de souches des trois pathogènes (Guyane + Montpellier).

2 : Tests-feuille *Phytophthora* en Guyane

3 : Tests-feuille *P. megakarya* à Montpellier

4 : Tests *M. perniciosa* en Guyane

5 : Tests *M. perniciosa* à Montpellier

6 : Tests *C. fimbriata* en Guyane

7 : Tests de résistance des cortex de cabosses (Guyane)

8 : Analyses statistiques et interprétation de l'ensemble des résultats.

### 5.3 Perspectives

A l'issue des trois années prévues pour la durée du projet, on peut espérer les résultats suivants :

- La sélection de nombreux clones résistants à chacune des maladies ;
- La sélection de certains clones résistants aux trois maladies ;
- Un catalogue des espèces de champignons endophytes du cacaoyer présentes en Guyane ;
- Les premiers résultats de tests biologiques.

Dans la mesure où ces résultats seront acquis (même seulement en partie), il sera possible d'envisager ensuite les travaux suivants :

- « Pré-breeding » en croisant les clones sélectionnés à l'issue du projet et/ou déjà décrits (descripteurs agro-morphologiques), afin de cumuler les gènes intéressants dans de nouveaux géniteurs, utilisables en tant que clones ou comme parents pour la création et la sélection de variétés résistantes (y compris en amélioration préventive).

- Tester « *in planta* » les potentialités en lutte biologique des espèces ou souches d'endophytes s'étant révélées efficaces à l'issue des tests biologiques de laboratoire, et éventuellement tester des formulations (associations).

- Vérifier dans le groupe des cacaoyers spontanés de Guyane, la pertinence des marqueurs microsatellites proposés par Santos *et al.* (2007) pour identifier les génotypes résistants au balai-de-sorcière.

## 5.4 Références citées

- Arnold, A.E., Herre, E.A. 2003. Canopy cover and leaf age affect colonization by tropical fungal endophytes: ecological pattern and process in *Theobroma cacao* (Malvaceae). *Mycologia* 95: 388-398.
- Arnold, A.E., L.C. Meija, D. Kylo, E.I. Rojas, Z. Maynard, N. Robbins & E.A. Herre. 2003. Fungal endophytes limit pathogen damage in a tropical tree. *PNAS* 100 (n°26) : 15649-15654.
- Assemat S., Ph. Lachenaud, F. Ribeyre, F. Davrieux, J.-L. Pradon & E. Cros, 2005. Bean quality traits and sensory evaluation of wild Guianan cocoa populations (*Theobroma cacao* L.). *Genetic Resources and Crop Evolution* 52: 911-917
- Bekele, F. and D. R. Butler. 2000. Proposed short list of cocoa descriptors for characterization. In : Working procedures for cocoa germplasm evaluation and selection. A. B. Eskes, J.M.M. Engels & R. A. Lass, edit. 2000, IPGRI (Rome, Italy), pp. 41-48.
- Bekele, F., Bidaisee, G. and Rampat, R. 1997. A preliminary study of pod husk hardness of accessions in the International cocoa Genebank, Trinidad. In : Annual report 1996, CRU, The University of the west Indies, St Augustine, Trinidad and Tobago, 67-76.
- Bekele, F. L., G.G. Bidaisee and W. M. Mollineau. 2001. Morphological characterization of germplasm from the ICG, T: highlights of recent findings. In : Annual report 2000, CRU, The University of the west Indies, St Augustine, Trinidad and Tobago, 16-21.
- Clay, K. 2004. Fungi and the food of the gods. *Nature* (London) 427: 401-402
- Crozier J., Thomas S.E., Aime M.C., Evans H.C. and Holmes K.A. 2006. Molecular characterization of fungal endophytic morphospecies isolated from stems and pods of *Theobroma cacao*. *Plant Pathology*, 55, 783-791.
- Delgado, J. C. & E. Echandi. 1965. Evaluación de la resistencia de especies y clones de cacao al mal del machete provocado por *Ceratocystis fimbriata*. *Turrialba* 15 (4): 286-289
- Delgado, R. 2007. Assessment of resistance of Nacional cocoa accessions to *Ceratocystis fimbriata* in Ecuador. *Ingenic Newsletter* 11 : 29-30.
- Delgado, R. A. & C. Suárez Capello. 2005. Evaluación de la resistencia al Mal del Machete en clones internacionales de cacao en Ecuador. 14<sup>th</sup> International Cocoa Research Conference, Accra, Ghana, 13-18 October 2003, 1273-1277.
- Dominguez, P. F. 1971. Avance del trabajo sobre selection de plantas de cacao por resistencia al hongo *Ceratocystis fimbriata*. *Rev. Fac. Agron.* VI (2), 5-29.
- Dominguez, P. F. 1976. Relacion entre vigor de las plantas y resistencia al hongo *Ceratocystis fimbriata* en cacao. *Rev. Fac. Agron. Maracay* IX (1) : 5-21.
- Evans, H.C., Holmes, K.A. & Thomas, S.E. 2003. Endophytes and mycoparasites associated with an indigenous forest tree, *Theobroma gileri*, in Ecuador. *Mycological Progress* 2: 149-160.



- Greathouse, D.C., Laetsch, W.M., Phinney, B.O. 1971. The shoot-growth rhythm of a tropical tree, *Theobroma cacao*. *American Journal of Botany* 58, 281-286.
- Grosclaude, G., Olivier, R., Pizzuto, J-C, Romiti, C & Madec, S. 1988. Détection par piégeage du *Ceratocystis fimbriata* f. *platani*. Application à l'étude de la persistance du parasite dans du bois infecté. *Forest Pathology* 18 (7), 385-390.
- Holmes K.A., Schroers H.J., Thomas S.E., Evans H.C. and Samuels G.J. 2004. Taxonomy and biocontrol potential of a new species of *Trichoderma* from the Amazon basin of South America. *Mycological Progress*, 3 (2), 199–210.
- IPGRI (Eskes, A. B). 2001. CFC/ICCO/IPGRI project on: Cocoa Germplasm Utilization and Conservation : a Global Approach. Appendix to Six-Month General Progress Report (Year 4). IPGRI, december 2001.
- Lachenaud, Ph. 2007. Fruit trait variability in wild cocoa trees (*Theobroma cacao* L.) from the Camopi and Tanpok basins in French Guiana. *Acta Botanica Gallica* 154 (1), 117-128.
- Lachenaud Ph. & B. Sallée, 1993. Les cacaoyers spontanés de Guyane. Localisation, écologie et morphologie. *Café, Cacao, Thé* 37 (2), 101-114.
- Lachenaud, Ph., V. Mooleedhar & C. Couturier, 1997. Wild cocoa trees in French Guiana. New surveys. *Plantations, Recherche, Développement* 4 (1), 25-32.
- Lachenaud Ph., F. Bonnot & G. Oliver, 1999. Use of floral descriptors to study variability in wild cocoa trees (*Theobroma cacao* L.) in French Guiana. *Genetic Resources and Crop Evolution* 46, 491-500.
- Lachenaud Ph., G. Oliver & Ph. Letourmy, 2000. Agronomic assessment of wild cocoa trees (*Theobroma cacao* L.) from the Camopi and Tanpok basins (French Guiana). *Plant Genetic Resources Newsletter* 124, 1-6.
- Lachenaud Ph. & G. Oliver, 2001. Variability in various agronomic traits of wild cocoa trees (*Theobroma cacao* L.) from the Camopi and Tanpok basins (French Guiana). *Plant Genetic Resources Newsletter* 128, 35-40.
- Lachenaud Ph., O. Sounigo & G. Oliver, 2004. Description of genetic structure in Guianan wild cocoa trees (*Theobroma cacao* L.) using Isozyme Electrophoresis. *Plant Genetic Resources Newsletter* 139, 24-30.
- Lachenaud Ph. & G. Oliver, 2005. Variability and selection for morphological bean traits in wild cacao trees (*Theobroma cacao* L.) from French Guiana. *Genetic Resources and Crop Evolution* 52: 225-231.
- Lachenaud Ph., D. Paulin, M. Ducamp, J.-M. Thevenin. 2007. Twenty years of agronomic evaluation of wild cocoa trees (*Theobroma cacao* L.) from French Guiana. *Scientia Horticulturae* 113: 313-321.
- Lachenaud, Ph., D. Zhang. 2008. Genetic diversity and population structure in wild stands of cacao trees (*Theobroma cacao* L.) in French Guiana. *Annals of Forest Science* 65: 310-316.
- N'guessan, F., A. B. Eskes, Ph. Lachenaud. 2005. Study on the resistance of cocoa trees to mirids in Côte d'Ivoire: classification of major groups by their level of resistance /

sensitivity. Conférence Internationale sur la Recherche Cacaoyère. 14, 2003-10-13/2003-10-18, Accra, Ghana, vol 1, 559-565

-N'guessan, K.F., Eskes, A.B., Lachenaud, Ph. 2007. Mirid resistance studies in Côte d'Ivoire: field observations on recent and cumulative damage. In: Eskes, A.B., Efron, Y. (Eds), Global Approaches to Cocoa Germplasm Utilization and Conservation. CFC Technical Paper 50, pp. 170-181

- Papavizas, GC, Lumsden, RD. 1982. Improved medium for isolation of *Trichoderma* spp. from soil. *Plant Disease* 66 : 1019-1020

- Paulin D., M. Ducamp, K. Vezian-Bonnemayre & A.B. Eskes, 2005.- Evaluation par le test d'inoculation sur feuille du niveau de résistance de trente clones vis-à-vis de plusieurs espèces de *Phytophthora*. Conférence Internationale sur la Recherche Cacaoyère. 14, 2003-10-13/2003-10-18, Accra, Ghana, vol. 1, 85-93.

- Paulin, D., Ducamp, M., Lachenaud, Ph., 2006. Evaluation des cacaoyers spontanés de Guyane française pour leur résistance à *Phytophthora megakarya*. Proceedings of the 15<sup>th</sup> International Conference on Cocoa Research, San José (Costa Rica), 9-14/10/2006 (sous presse).

- Paulin, D., M. Ducamp, P. Lachenaud. 2008. New sources of resistance to *Phytophthora megakarya* identified in wild cocoa tree populations of French Guiana. *Crop Protection* 27: 1143-1147.

- Pires, J. L. 2003. Avaliação quantitativo e molecular de germoplasma para o melhoramento do cacau com ênfase na produtividade dos frutos e resistência (Capítulo 3 : Resistência à Vassoura-De-Bruxa e Podridão). Ph D Thesis, Universidad federal de Viçosa, MG, Brasil.

- Przybyl, K. 1988. The response of *Populus* "nE42" to infection by *Ceratocystis fimbriata* f. *platani* from cacao tree and plane. *Forest pathology* 18 (1), 8-12.

- Samuels, G.J., Suarez, C., Solis, K., Holmes, K.A., Thomas, S.E., Ismaiel, A., Evans, H.C. 2006. *Trichoderma theobromicola* and *T. paucisporum*: two new species from South America. *Mycological Research* 110: 381-392.

- Santos, R.M.F., U.V. Lopes, R. C. Bahia, R.C.B. Machado, D. Ahnert & R.X. Corrêa. 2007. Marcadores microsatélites relacionados com a resistência à vassoura-de-bruxa do cacau. *Pesq. Agropec. Bras.*, Brasília, v42, n°8, 1137-42.

- Silva, S. D. V. M., M. C. Paim & W. M. Castro. 2004. Cacau "Jaca" resistente a *Ceratocystis fimbriata* na região cacauera da Bahia, Brasil. *Fitopatol. Bras.* 29 (5) : 538-540.

- Silva, S. D. V. M., E. P. Mandarino, V. O. Damaceno & L. P. Santos Filho. 2007. Reação de genótipos de cacaueiros a isolados de *Ceratocystis cacaofunesta*. *Fitopatol. Bras.* 32 (6) : 505-506.

- Sounigo O., Y. Christopher & R. Umaharan, 1996. Genetic diversity assessment of *Theobroma cacao* L. using iso-enzyme and RAPD analyses. Report for 1996, 35-51. Cocoa Research Unit, The University of the West Indies, St. Augustine, Trinidad and Tobago.

- Sounigo O., S. Ramdahin, R. Umaharan, Y. Christopher, 1999.- Assessing cacao genetic diversity using IE and RAPD techniques. Annual Report 1998, 25-28. Cocoa Research Unit, The University of the West Indies, St. Augustine, Trinidad and Tobago.

- Sounigo O., S. Ramdahin, Y. Christopher, 2001.- Etude de la diversité génétique du cacaoyer à l'aide des RAPD. 13th International Conference on Cocoa Research, Kota Kinabalu (9-14/10/2000), Sabah, Malaysia, 119-126.

- Surujdeo-Maharaj, S., Umaharan, P., Butler, D.R., Sreenivasan, T.N. 2003. An optimized screening method for identifying levels of resistance to *Crinipellis pernicios* in cocoa (*Theobroma cacao*). *Plant Pathology* 52:464-475.

-Taylor, J.E., Hyde, K.D. & Jones, E.B.G. 1999. Endophytic fungi associated with the temperate palm, *Trachycarpus fortunei*, within and outside its natural range. *New Phytologist* 142: 335-346.

- Vigouroux, A. 1979. Une méthode simple de recherche de *Ceratocystis fimbriata* f. *platani* sur arbre en place. *Forest pathology* 9 (5), 316-320.